

## Der Befruchtungsvorgang beim Ei von *Petromyzon Planeri*.

Ein Beitrag zur Kenntniss des Baues und der ersten Entwicklung des befruchteten Wirbelthiereies.

Von

Dr. Ernst Calberla, Privatdocent in Freiburg i/Br.

---

Mit Tafel XXVII—XXIX.

---

Ueberblickt man die neueste Literatur über die Vorgänge bei der Befruchtung, so bemerkt man, dass ein Punct, im Verhältniss zu den anderen, sehr wenig ausführlich behandelt worden ist.

Es ist dies der Eintritt des Spermatozoon in das Ei. Die Forscher, die sich in neuester Zeit mit den Vorgängen bei der Befruchtung beschäftigt haben, referiren über diesen Act einfach die Mittheilungen älterer Forscher, sie betrachten nur das Zusammentreffen des eingewanderten Spermatozoons mit dem Eikern genauer. Dabei mögen wohl die Ungunst der Objecte oder auch die Ansicht der Forscher, dass der Durchtritt des Spermatozoons durch die Eihaut mehr oder weniger bedeutungslos sei, massgebend gewesen sein.

Gerade mit dem Vorgange des Durchtretens des Spermatozoons durch die Eihaut hat man sich nie eingehend befasst, trotzdem dass dies jedenfalls einer der wichtigsten Puncte des ganzen Befruchtungsvorganges ist.

Es ergaben sich nun bei der Beobachtung des Befruchtungsvorganges bei *Petromyzon* Thatsachen, die gerade bezüglich des letzt-erwähnten Punctes den Angaben der Autoren über diesen Vorgang bei anderen Wirbelthiereiern völlig entgegengesetzt sind. Diese Befunde schliessen sich den Angaben des trefflichen Beobachters AUGUST MÜLLER, der gleichfalls den Befruchtungsvorgang am *Petromyzonei* beobachtet hat (Verhandlungen der Königsberger phys.-öconomischen Gesellschaft 1864 pag. 109 ff.) direct an. AUG. MÜLLER hatte allerdings nur einen kleinen Theil der bei jenem Acte stattfindenden Vorgänge beobachtet, auch seine Deutungen dieser Vorgänge waren entschieden unrichtige,

allein wichtig ist es immerhin, dass ich AUG. MÜLLER's Beobachtungen in allen Puncten bestätigen konnte und so dessen völlig in Vergessenheit gerathene Beobachtungen aufs Neue in Erinnerung zu bringen vermochte. Hervorheben will ich hier, dass dem genannten Autor insbesondere jener Theil der beim Befruchtungsvorgang stattfindenden Vorgänge entgangen war, die auf ihm noch nicht bekannten Verhältnissen im Bau des Petromyzoneies beruhend, vor allem eine weitere Einsicht in den gesammten Befruchtungsvorgang ermöglichten.

Ich beginne deshalb die Mittheilung der Ergebnisse meiner Untersuchung mit der genauen Beschreibung des reifen befruchtungsfähigen Eies und daran werde ich die Befunde am unreifen sowie am überreifen Eie anschliessen.

Das dem lebenden Thier entnommene reife Petromyzonei hat meist die Form eines Ellipsoids, wovon man sich am besten überzeugt, wenn man dasselbe in einem Glasschälchen hin und her bewegt bis endlich das Ei jene Lage gefunden hat, der etwa die Abbildung Fig. 1 entspricht. Durch eine klebrige Substanz, die die Aussenfläche der Eihaut zu überziehen scheint, haftet das Ei an jedem festen Gegenstand, also auch am Boden des Glasschälchens, eine Eigenschaft, die es ermöglicht, das Ei in jeder gewünschten Lage zu fixiren. Solche reife Eier erhält man am besten, wenn man ein geschlechtsreifes Weibchen (Anfang bis Mitte Mai) am vordern Körperende in ein feuchtes Tuch eingeschlagen in die Hand nimmt und nun einen sanften streichenden Druck vom Kiemenkorb her auf die Bauchfläche ausübt. Sofort kommen aus der gemeinsamen Oeffnung des Urogenital- und Darmsystems die Eier hervorgequollen<sup>\*)</sup>. Man lässt die Eier in eine Schale mit Wasser fallen, aus der sie dann, behufs der Untersuchung, vermittelst einer Pipette in das Glasschälchen übertragen werden können.

Die Eier haben eine Länge von 1,0 bis 1,2 Millimeter und eine Breite und Dicke von 0,9 bis 1,0 Millimeter. Die Eihaut hat eine Dicke von circa 0,03 Millimeter. Letztere umgiebt dicht anliegend den gesammten Dotter. An ihr kann man im optischen Querschnitt sowie an Schnittpräparaten sehen, dass sie aus zwei Schichten besteht, deren Trennung jedoch keinesfalls eine scharfe ist, denn theilweis gehen beide Schichten unmerklich ohne scharfe Grenze in einander über.

Der Bau der Schichten ist folgender: Es ist eine äussere stark lichtbrechende, nach aussen rauhe, mit allerlei Erhebungen und Zacken besetzte Rindenschicht und eine helle, durchscheinende, weit schmalere

<sup>\*)</sup> Auf dieselbe Weise erhält man von geschlechtsreifen Männchen frisches Sperma.

Innenschicht. Die äussere Schicht macht mit schwachen Vergrösserungen betrachtet den Eindruck, als wenn sie aus concentrisch gelagerten Lamellen bestände, wendet man jedoch sehr starke Vergrösserungen an, so erkennt man, dass sie aus einer homogenen Substanz besteht, die von feinen Canälen durchzogen wird. Die Porencanäle münden aussen, so, dass stets am Rand ihrer Mündung eine der erwähnten Zacken oder Erhebungen der äussern Oberfläche sich befindet. Es durchziehen diese Porencanäle ohne Unterbrechung auch die innere Schicht der Eihaut.

Letztere Schicht erweist sich bei genauer Betrachtung als aus derselben Substanz, aus der die äussere Schicht der Eihaut besteht, zusammengesetzt, nur ist sie weit lockerer, als die äussere Schicht gefügt, sie ist also der nicht so sehr verdickte Theil der gesammten Eihaut. Ich fasse die ganze Eihaut als eine Abscheidung der Randschicht des Dotters auf; es stellt somit die innerste Schicht die jüngste Abscheidung dar, die noch nicht so fest gefügt ist wie die Randschicht. Die Betrachtung der Eihaut unreifer oder nahezu reifer und überreifer Eier stellen die Richtigkeit dieser Ansicht ausser allen Zweifel. An den unreifen Eiern sieht man die Grenze zwischen Innen- und Aussenschicht einmal viel deutlicher und ferner ist vor Allem die Innenschicht viel dicker als am reifen befruchtungsfähigen Ei.

An überreifen Eiern\*) ist jeder Unterschied von innerer und äusserer Schicht verschwunden, die ganze Eihaut besteht aus einer einzigen homogenen stark lichtbrechenden Schicht.

Die Eihaut des reifen Eies ist jedoch nicht an allen Stellen so gleichmässig gebaut. Betrachtet man ein Ei, welches so liegt, dass die ovale Form am besten zum Ausdruck kommt, genauer, so bemerkt man an einem der beiden schmalen Enden eine Verdickung der Eihaut. Es erscheint dieselbe einmal nach aussen vorgewölbt, etwa so als wenn ein flaches Uhrglas noch dem Eie aufgelegt sei und ferner ist an derselben Stelle auch die Innenschicht der Eihaut anders angeordnet. Man sieht unter der nach aussen hervortretenden Verdickung oder Vorbuchtung der äussern Schicht eine, wenn auch nicht so bedeutende, ihr aber sonst in Lage und Form entsprechende Ausbuchtung der Innenschicht. Die ganze Stelle sieht so aus, als wenn an derselben in der gesammten Eihaut sich ein kreisrunder

\*) Ueberreife Eier erhält man dadurch, dass man ein geschlechtsreifes Weibchen isolirt in sehr kaltes fliessendes Wasser setzt und nun etwa 4—4½ Monat nach der Laichzeit die Eier untersucht. Sie zeichnen sich, beiläufig bemerkt, auch dadurch aus, dass man dieselben selbst mit sehr lebenskräftigen Spermatozoen nicht mehr befruchten kann. (Ob die selbst sehr lebenskräftigen Spermatozoen noch befruchtungsfähig sind, lässt sich eben nicht beurtheilen!)



Ausschnitt befände, in den ein ebenso grosses Stück eines sphärischen Körpers, der aber einen viel kleineren Krümmungsradius besitzt, eingesetzt sei. Es entsteht durch diese Bildung in der Eihaut an jener Stelle zwischen der Eihaut und dem Eidotter ein Raum, über dessen Ausfüllung ich weiter unten ausführlich zu sprechen komme. Schnitte, die das Ei günstig getroffen haben, stellen diese Befunde ausser allen Zweifel. Auf solchen Schnitten oder bei Betrachtung der Eihaut im optischen Querschnitt bemerkt man ferner, dass die Aussenseite der Eihaut an jener eben ausführlich besprochenen Stelle gewulstet ist. Bei besonders günstiger Beleuchtung oder auf Schnitten, die gerade das Centrum jener Vorbuchtung getroffen haben, erkennt man deutlich, dass sich auf ihrer Mitte eine wenn auch sehr flache, doch deutlich erkennbare tellerförmige Einbuchtung befindet.

Man bemerkt ferner, dass jene Einbuchtung in der Mitte sich trichterförmig vertieft und dass von der engsten Stelle des Trichters ein sich erst erweiternder, dann nochmals um ein Minimales verengender Canal die Dicke der Eihaut durchzieht. Innen öffnet sich dieser Canal mit einer unbedeutenden, einem Trompetenmundstück ähnlichen Erweiterung, indem seine Wände in die Innenfläche der Eihaut übergehen.

Es besteht also ein Canal, der die Eihaut an der erwähnten Stelle durchbohrt, sein Lumen lässt sich ganz gut mit der Form eines umgekehrt gestellten, mit weiter offener Glocke versehenen Wein- oder Champagnerglases vergleichen. Zur weiteren Erläuterung verweise ich auf die Figuren 2 und 3.

Diese Oeffnung in der Eihaut ist die Mikropyle des Petromyzoneies, die ich zum Unterschied von einer an der Dotteroberfläche vorhandenen ähnlichen Bildung als die äussere Mikropyle bezeichne. Sie stimmt im Wesentlichen in ihrem Bau mit der Mikropyle der Knochenfischeier überein. Wenigstens kann ich nach Präparaten der Mikropyle von Lachs- und Forelleneiern, die ich besitze, im Vergleich zu der der Petromyzoneier nur geringe Formverschiedenheiten wahrnehmen.

Weder AUGUST MÜLLER (l. c.) noch MAX SCHULTZE<sup>1)</sup> konnte trotz eifrigster Nachforschung am Petromyzonei eine Mikropyle auffinden.

Mir selbst ist dieselbe lange Zeit bei der Betrachtung der Eier entgangen, bis ich sie endlich, gewissermassen durch Zufall, auffand. Einmal wissend, an welchem Theile des Eies sie sich befindet, gelang es mir, dieselbe stets an jedem Ei sofort aufzufinden.

Ich habe noch zu erwähnen, dass, sobald das Ei mit Wasser in Berührung kommt, jene zackigen Vorsprünge auf der äussern Oberfläche

1) MAX SCHULTZE: Die Entwicklungsgeschichte des Petromyzon Planeri. Haarlem 1856. Gekr. Preisschrift.

der Eihaut sehr schnell durch Wasseraufnahme aufquellen, infolge davon erscheint das ganze Ei wie mit einem zarten Hofe einer hyalinen Substanz umgeben. Jenes Aufquellen der Zacken, die der Rindenschicht der Eihaut angehören, mag wohl auch die Veranlassung zur Entstehung der klebrigen Oberfläche der Eihaut sein.

Ich wende mich nun zur Besprechung des Baues und der Anordnung des Dotters. Es liegt derselbe, wie ich dies schon erwähnt habe, der Eihaut innig an. Er besteht aus gelbweisslichen Dotterelementen, die in dem ganz durchsichtigen Dotter-Protoplasma suspendirt sind. Diese helle leichtflüssige Protoplasmamasse findet sich dotterkörnchenfrei an einigen Stellen im Ei, so an der gesamten Dotterperipherie und selbst im Innern desselben mehr oder minder mächtig angeordnet. Es wird der ganze Dotter, soweit er von den im Protoplasma suspendirten Dotterkörnchen undurchsichtig erscheint, von einer körnchenfreien Dotterprotoplasmaschicht umgeben. Diese Schicht ist sehr dünn, kaum dass sie mehr wie 0,005 bis 0,010 Millimeter beträgt. Bei Anwendung starker Vergrösserungen kann man die Dotteranordnung am reifen frischen wie am gehärteten geschnittenen Ei sehr deutlich sehen (Fig. 2). Diese dotterkörnchenfreie Dotterprotoplasmaschicht ist an der innern Oeffnung der äusseren Mikropyle mächtiger als an den übrigen Theilen der Dotterperipherie angeordnet. Einmal befindet sich dort, wie oben bei Beschreibung des Baues der äusseren Mikropyle erwähnt, ein grösserer Zwischenraum zwischen Eihaut und Eidotter (Fig. 1, 2 und 3) und andererseits ist an jener Stelle, Schnitte lehren dies, der dotterkörnchenhaltige Theil des Dotters etwas eingebuchtet (Fig. 3, 4). Diese Einbuchtung im körnchenhaltigen Dotter liegt gerade der innern Oeffnung der äussern Mikropyle gegenüber. Beobachtet man nun jene Stelle bei günstiger Lage des Eies genauer oder betrachtet man Schnitte, die das Ei so getroffen haben, dass die äussere Mikropyle central und zu gleicher Zeit auch der Eikern getroffen worden ist, so bemerkt man, dass in der Mitte jener Einbuchtung in den Dotterelemente enthaltenden Dotter sich eine runde Oeffnung befindet, von welcher aus, man kann dies natürlich nur auf Schnitten sehen, ein Canal gefüllt mit dotterkörnchenfreiem Protoplasma bis zum Eikern führt (Fig. 3, 4). Der Eikern selbst besitzt äusserst zarte Contouren und in seinem Innern lässt sich ein nur schwach mit Carmin färbendes verschwommene Contouren zeigendes Kernkörperchen erkennen. In manchen Schnittserien von Eiern gelang es mir jedoch auch nicht, ein Kernkörperchen im Eikern aufzufinden. Der letztere selbst ist mit einem Hofe körnchenfreien Protoplasmas umgeben.

Es führt also von der innern Mündung der äussern Mikropyle ein Strang körnchenfreien Protoplasmas, auf Schnitten als ein Band erscheinend, in einen von dotterkörnchenhaltigem Protoplasma gebildeten Canal in das Innere des Eies bis zu dem excentrisch gelegenen Eikern; letzterer schwimmt gewissermassen in solchem dotterkörnchenfreien Protoplasma. Dieser Canal hat meist eine Länge von 0,08 bis 0,15 Millimetern, doch habe ich auch gelegentlich Eier geschnitten, bei denen der Eikern noch mehr peripher lag und dann war natürlich auch jener Canal kürzer. Die Eier, an deren Schnitten ich diese Verhältnisse nachweisen konnte, waren entweder durch 10stündigen Aufenthalt in 4 % Chromsäure und nachheriges Aufbewahren in Alkohol oder durch  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ —1 Minuten langes Einlegen in 0,5 % Osmiumsäure und nachherige Aufbewahrung in Alkohol, gehärtet worden. Ehe ich die mit Osmiumsäure behandelten Eier in Alkohol brachte, wurden dieselben von der überflüssig eingedrungenen Säure durch Auswaschen in einem Gemisch von Glycerin 1 Theil, Alkohol 2 Theile, Wasser 3 Theile, befreit. Auch ein Einlegen der Eier nach der Osmiumsäure-Behandlung in 4 % Chromsäure und nachherige Aufbewahrung in Alkohol erwies sich als günstig. Vor dem Schneiden und Einbetten\*) wurden die Eier in toto mit ammoniakalischer Carminlösung gefärbt.

Meine Untersuchung des reifen Petromyzoneies hat somit gezeigt, dass der Bau desselben in einigen Puncten von dem anderer Wirbelthiereier abweicht. Es hat jedoch eine Anzahl von Forschern bei der Untersuchung von Wirbelthiereiern Verhältnisse gefunden, die den hier mitgetheilten Verhältnissen im Bau des Eies zum Theil sehr ähneln. Die hieher bezüglichen Angaben sind jedoch meist sehr flüchtig gehalten und geht aus denselben hervor, dass jenen Verhältnissen bis jetzt keine grosse Bedeutung beigelegt wurde. Auf diese Angaben komme ich am Schlusse dieses Abschnittes zu sprechen.

Ich will hier gleich erwähnen, dass diese Verhältnisse im Bau des Eies für den Befruchtungsvorgang von grosser Wichtigkeit sind und da

\*) Ich will hier noch in Bezug auf die Einbettungsmethode einen Punct hervorheben, den ich in der Publication einer Einbettungsmasse (Morph. Jahrb. Bd. II. p. 445) nicht genügend in den Vordergrund gestellt habe. Die Hauptvorzüge der Eidotter-Eiweisseinbettungsmasse bestehen darin, dass dieselbe einmal erlaubt, selbst die kleinsten Objecte in der wünschenswerthen Lage zu fixiren, und ferner, dass es nie nöthig ist, die Einbettungsmasse vom Schnitt zu entfernen, diesen letztern Punct wollte ich hier hervorheben. Die Einbettungsmasse wird in Nelkenöl, Balsam oder Glycerin so durchsichtig, dass ihre Anwesenheit im Präparat nicht im geringsten stört. Gerade die am Präparat anhängende Einbettungsmasse erhöht die Haltbarkeit des Präparats. Ich erwähne ferner noch, dass die Schnittgüte der Masse, je länger sie in Alkohol von 90° liegt, immer zunimmt.



ich mich bei Schilderung desselben vielfach auf diese Verhältnisse beziehen muss, will ich hier die Namen, die ich für diese Einrichtungen vorschlage, mittheilen. Jene Oeffnung im körnchenhaltigen Dotter steht in den engsten Beziehungen zum Eintritt des Spermatozoon oder wenigstens eines Theils desselben in das Dotterinnere; wir nennen nun die Oeffnung in der Eihaut, die für den Durchtritt des Spermatozoon besteht, die äussere Mikropyle und bezeichne ich deshalb jene Oeffnung im körnchenhaltigen Dotter, an die sich ein Gang, ein Canal bis zum Eikern anschliesst, als innere Mikropyle. Den Gang, der von der innern Mikropyle bis zum Eikern führt, nenne ich, ich werde den Namen weiter unten noch begründen, den Spermagang.

Durch genaue Betrachtung des Befruchtungsvorganges oder durch geschickte Behandlung frischer Eier kann man sich leicht überzeugen, dass das körnchenfreie Protoplasma viel leichtflüssiger, leicht beweglicher ist als das dotterkörnchenhaltige, eine Thatsache, die für den Befruchtungsvorgang sehr wichtig ist. Ein Fremdkörper, der eine eigene Bewegungsfähigkeit besitzt und der durch die äussere Mikropyle in den Eihaut-Eidotterraum eingedrungen ist, findet in dem die innere Mikropyle und den Spermagang ausfüllenden dotterkörnerlosen Protoplasma den geringsten Widerstand, kann also mit der grössten Schnelligkeit, wenn er will, zum Eikern gelangen.

Ich habe hier noch die Befunde, die sich bei der Betrachtung der unreifen Petromyzoneier ergeben haben, anzufügen.

Betrachtet man einen Schnitt durch den Eistock eines ausgewachsenen Exemplares von *Ammocoetes* Plan. 180 Mm., so findet man denselben zusammengesetzt aus einer grossen Zahl heller, durchsichtiger, runder oder ovaler Zellen von 0,18 bis 0,24 Mm. Grösse mit sehr deutlichem Kern und Kernkörperchen. Es sind dies die Primitiveier (Fig. 17). Der Kern liegt meist in der Mitte der Zelle und ist im Verhältniss zu der Grösse derselben sehr voluminös, das Kernkörperchen ist klein, aber scharf contourirt.

Die Eier eines Eierstockes von *Ammocoetes* aus dem Beginn des Umwandlungsstadiums (Anfang September, Fig. 18), d. h. eines Exemplares, welches gerade die erste Anlage des Saugapparates zeigt, sind in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten. Sie besitzen eine bedeutendere Grösse und zwar eine Länge von 0,36 bis 0,4 Mm. und eine Breite von 0,25 bis 0,32 Mm. Diese Vergrösserung des Eies ist vorwiegend durch eine Volumszunahme des Dotters entstanden. Die Grösse des Kernes, oder des Keimbläschens der Autoren, hat sich dagegen nicht verändert. Auffällig ist die ganz excentrische Lage desselben.

Das Ei selbst ist noch durchsichtig, allein sein Protoplasma ist schon trüber als das der Primitiveier (Fig. 47).

Betrachtet man nun Eier von einem Petromyzon, der etwa  $1\frac{1}{2}$ —2 Monat vor der Geschlechtsreife getödtet wurde, so findet man, dass zwischen dem Aussehen derselben und dem der Eier des Ammocoetes aus dem Umwandlungsstadium eine bedeutende Differenz besteht. Einmal ist die Volumszunahme eine sehr beträchtliche und ferner sind die Eier jetzt undurchsichtig geworden. Ausserdem ist die Eihaut fertig gebildet und sind an ihr die zwei Schichten, die innere und äussere, deutlich zu erkennen. Vor allem aber fällt das Aussehen des Kernes oder des Keimbläschens auf (Fig. 49). Es liegt dasselbe excentrisch und meist sehr nahe der Dotterperipherie. Bei den Eiern, wo der Kern nicht mehr an der Dotterperipherie liegt, bemerkt man, dass von der Dotteroberfläche bis zum Eikern sich ein kurzer Strang gehärteten körnchenfreien Protoplasmas bis zum Keimbläschen hin erstreckt. Derselbe färbt sich gleich dem Stroma des Keimbläschens nicht mit Carmin. Dieser Strang ist natürlich entsprechend der peripheren Lage des Keimbläschens sehr kurz. Vergleicht man diese Thatsachen mit denen, die sich bei Beobachtung des reifen Eies ergeben, so ist leicht zu sehen, dass wir es hier mit einem noch ein wenig in der Entwicklung zurückgebliebenen Ei zu thun haben. Die Eihaut ist angelegt, die äussere Mikropyle bei einigen Eiern sogar schon sichtbar und dass der Strang hellen Protoplasmas, der von der Dotterperipherie zum Kern führt, nichts anderes ist als die erste Anlage des Spermaganges, steht wohl ausser allem Zweifel. Es fragt sich nun: wie sind diese Veränderungen der Lage und Form der Keimbläschen aufzufassen?

Wir wissen durch eine grosse Reihe von Beobachtungen an allen möglichen Eiern, dass der Reife des Eies eine Veränderung am Keimbläschen vor sich geht. Sie besteht darin, dass dasselbe an die Eiperipherie tritt, dort unter verschiedenartigen, theilweis sehr complicirten Erscheinungen sich theilt und geradezu Theile des Keimbläschens vom Ei ausgestossen werden. Ob dasselbe ganz, zum grössten oder nur zu einem kleinen Theil ausgestossen wird, ist noch controvers, jedenfalls lässt eine Anzahl von Forschern aus dem Rest des Keimbläschens den Kern des reifen Eies, den Eikern (Hertwig) sich aufbauen. Dieser rückt dann wieder mehr in die Mitte des Eies, zeigt aber stets viel weniger scharf begrenzte Contouren und deutlich sichtbares Kernkörperchen als das unveränderte Keimbläschen. Diese Veränderungen des letztern, die die Reife, die Befruchtungsfähigkeit des Eies bewirken, gehen theilweis schon im Ovarium, theils erst im Oviduct oder erst nach dem Austritt aus dem Thierkörper vor sich.



Wie ist dies nun beim *Petromyzonei*? Betrachtet man die Figuren 49 und 2 und 3, so sieht man, wie schon erwähnt, dass gewissermassen die Eier des  $4\frac{1}{2}$  Monat vor der Geschlechtsreife getödteten Thieres das reine Vorbereitungsstadium für das reife Ei darstellen. Der Eikern ist im Begriff von der Peripherie mehr dem Eicentrum zuzuwandern. Auf diesem Wege nimmt er eine gewisse Quantität körnchenfreien Protoplasmas als Strang angeordnet mit in's Innere des Eies. Dies lässt alles darauf schliessen, dass der Kern des *Ammocoeteseies* an die Peripherie gewandert ist und nun, wir haben es jetzt mit völlig entwickelten Exemplaren von *Petromyzon* zu thun, wieder im Begriff ist dem Eicentrum zuzuwandern. Leider ist es mir nicht möglich gewesen, die Zwischenstadien aufzufinden — aber nach den Befunden, die ich mitgetheilt habe, wird über den Verlauf dieses Vorganges kein Zweifel herrschen. Ich nehme also an, dass, wenn überhaupt bei dem *Petromyzonei* die Ausstossung eines Theiles des Keimbläschens erfolgt, diese dann eintritt, wenn das Keimbläschen an die Eiperipherie gewandert ist. Diese Wanderung trifft wieder mit der Umwandlung der Larve in das eigentliche Thier zeitlich zusammen. Also haben wir im Eierstock der ausgewachsenen Larve Eier mit einem Keimbläschen und nach der Umwandlung zu *Petromyzon* reife oder nahezu reife Eier mit einem Eikern im Sinne HERRWIG's. Ebenso langsam, als die Umwandlung der Larve in das reife Thier sich vollzieht, ebenso langsam erfolgt wahrscheinlich auch hier die Umwandlung des Keimbläschens unter den bekannten Vorgängen, als Bildung des Richtungskörperchens etc., in den Eikern. Es wird ein reiner Zufall sein, wenn es gelingt, alle Zwischenstadien der Entwicklung aufzufinden. Dass keine Veränderung des Eies in dieser Beziehung, keine Ausstossung eines Richtungskörperchens, beim Entfernen des Eies aus dem Körper oder kurz vor der Befruchtung erfolgt, werde ich in dem folgenden Abschnitte zeigen.

Ich erwähne nochmals, dass in Betreff der Umwandlung des Keimbläschens in den Eikern meine Beobachtungen eine Lücke zeigen, die sich aber durch die Befunde am *Petromyzonei* und durch Vergleich mit den Befunden der Autoren bei Untersuchung der Reifung der Eier anderer Thiere ausfüllen lässt\*).

\*) Im Laufe des Herbstmonats des Jahres 1877 gelang es mir, alle Stadien der Umwandlung der Larve, des *Ammocoetes*, in das Geschlechtsthier, den *Petromyzon*, zu erhalten. Es war mir dadurch möglich, die hier erwähnte Lücke in meinen Beobachtungen auszufüllen. Ich will hier kurz die bezüglichen Beobachtungen mittheilen: Die Eier von Exemplaren vom Ende September zeigten einen hellen durchsichtigen, wenn auch etwas getrübbten Dotter; das Keimbläschen derselben war deutlich zu erkennen und lag es nahe der Dotterperipherie. Das ganze Ei war etwas grösser als die in Figur 48 abgebildeten. Eier von Exemplaren aus der Mitte

Fassen wir die Befunde, die sich bei Beobachtung der unreifen und reifen Eier von *Petromyzon* ergeben, zusammen, so ergibt sich Folgendes: Im *Ammocoetes*stadium haben wir Eier mit einem Keimbläschen und Keimfleck, das erstere wandert zur Zeit der Verwandlung der Larve in das eigentliche Thier an die Eiperipherie, wahrscheinlich erfolgt kurz nach vollendeter Umwandlung der Larve an der Eiperipherie die Ausstossung eines Theiles des Keimbläschens, des Richtungskörperchens, und nun wandert der neugebildete Eikern, einen Strang körnerfreien Dotterprotoplasmas von der Eiperipherie nach sich ziehend, mehr dem Eicentrum zu. So finden wir das Ei 1—1½ Monat vor der Reife. Am reifen *Petromyzonei* finden wir dann an der Eihaut eine complicirt gebaute verdickte Stelle. Es findet sich daselbst ein Canal, der die Eihaut durchbohrt. Dieser Canal weicht in seinen anatomischen Verhältnissen nicht wesentlich von einer gleichen Bildung an der Eihaut anderer Fisch-eier ab. Bei solchen wird dieser Canal als Mikropyle bezeichnet, ich nenne sie beim *Petromyzonei* zum Unterschied einer ähnlichen Bildung an der Dotteroberfläche, die äussere Mikropyle. Der Eihaut liegt der Dotter überall mit seiner dünnen, aus dotterkörnchenfreiem Protoplasma bestehenden Rindenschicht dicht an. An der Gegend der äussern Mikropyle ist diese Rindenschicht, entsprechend einer dort befindlichen

October zeigten ausser der Zunahme der Grösse einen schon sehr durch Dotterkörnchen getrübbten Dotter. Das Keimbläschen lag in demselben noch scharf umgrenzt ganz an der Dotterperipherie. Ein gleiches Verhalten des Keimbläschens zeigten Eier von Umwandlungsstadien aus dem Anfang und der Mitte November. Bei letzten fiel nur die bedeutende Volumszunahme und die völlige Undurchsichtigkeit des Dotters auf. Die Eier von Exemplaren, die ich Ende November und in den ersten Tagen des December aus meinem Fischbehälter entnahm, zeigten jedoch eine Veränderung des Keimbläschens. Dasselbe hatte seine scharfen Contouren sowie das Kernkörperchen eingebüsst, es lag gewissermassen nur sein Protoplasma in unregelmässiger Form an der Peripherie. Im Innern dieses Protoplasmahaufens waren allerlei Kerngebilde zu erkennen (frisch untersucht), die wohl als Abkömmlinge des Kernkörperchens aufzufassen sind. Bei vielen Eiern war jedoch weder von einem Keimbläschen, noch von Kerngebilden etwas zu sehen, bei solchen lag nur ein heller Protoplasmatropfen an einer Stelle der Eiperipherie. Dieses Verhalten zeigten stets die grössten Eier des Eierstockes. Ich will hier erwähnen, dass mit jenem Zeitpunkt (Anfang December) die Umwandlung der Larve beinahe vollendet ist, so dass das Thier schon im Stande ist, seinen Saugapparat zu gebrauchen. Bei den Eiern eines Exemplars, welches ich am 9. December tödtete und welches als völlig ausgebildeter *Petromyzon* gelten konnte, war bei der Untersuchung derselben in jenem hellen Protoplasmahaufen, dem Rest des Keimbläschens, die Bildung eines neuen Kernes, des Eikernes, deutlich zu erkennen. Es fällt also mit der Vollendung der Umbildung der Larve in das Geschlechtsthier die Umwandlung des Keimbläschens in den Eikern (Hartwig), wie ich dies (siehe oben) schon vermuthet hatte, zusammen.

(Freiburg, den 40. December 1877.)

Erweiterung des Zwischenraumes zwischen Eidotter und Eihaut, bedeutend verdickt. Von jener verdickten Stelle des dotterkörnchenfreien Protoplasmas geht ein Canal, durch körnchenhaltige Dottersubstanz gebildet, in's Eiinnere bis zu dem, etwas excentrisch, jedoch eine Strecke von der Peripherie entfernt gelegenen Eikern. Dieser Gang, der Spermagang, ist mit dotterkörnchenfreiem Protoplasma ausgefüllt, welches auch noch den Eikern umgiebt. Am Beginn des Spermaganges an der Dotterperipherie findet sich eine flache Einbuchtung in den körnchenhaltigen Dotter, in deren Mittelpunkt mit scharfer runder Begrenzung der Spermagang seinen Anfang nimmt. Jene runde Oeffnung nannte ich, im Gegensatz zu der gegenüber liegenden Durchbrechung der Eihaut, die innere Mikropyle. Die Hauptmasse des Dotters selbst wird von dem dotterkörnchenhaltigen Dotterprotoplasma gebildet, dessen Elemente dicht aneinander gedrängt sind.

Wir haben also am Petromyzonei eine Oeffnung, die die Eihaut durchbohrt und die mit einem Canal im Dotter, der direct auf den Eikern zuführt, correspondirt. Also einen präformirten Gang von der Eioberfläche zum Eikern. Ich will hier noch erwähnen, dass die innere Oeffnung der äussern Mikropyle mit körnchenfreiem Dotterprotoplasma verklebt ist, welches Verschlussmittel nur durch allerlei Insulte, Reagentien oder durch die Einwirkung eines lebenskräftigen Spermatozoons entfernt werden kann.

Indem ich mich nun zur Mittheilung und Besprechung der Angaben der Autoren über den Bau der Eier wende, bemerke ich, dass es mir hier fern liegt, auf die gesammte, so reiche Literatur über den Bau der Eier einzugehen. Ich beziehe mich hier nur auf jene Schriften oder die in denselben enthaltenen Angaben, soweit sie Punkte betreffen, die ich bei Schilderung des Baues des Neunaugeneies in extenso behandelt habe, d. h. auf das Verhalten der Mikropyle und die Anordnung des Dotters.

Jene Randschicht des Dotters, gebildet aus einem körnchenfreien Theil seines Protoplasmas, ist schon von verschiedenen Beobachtern gesehen worden, aber Niemand hat derselben bis jetzt eine Bedeutung beigelegt. Bemerken will ich hier nochmals, dass jene Randschicht nur eine minimale Ausdehnung hat, aber doch am frischen wie am gehärteten Ei leicht zu constatiren ist.

Die Ansicht, dass der Dotter aus einem dotterkörnchenhaltigen, sonst hellen durchsichtigen Protoplasma incl. Kern mit Kernkörperchen besteht, ist wohl seit RATHKE heutzutage die allgemein herrschende. Es gilt dies für die nahrungsdotterfreien, wie auch — natürlich unter Einschränkungen — für Nahrungsdotter besitzende Eier. Eingedenk dieser Anschauung sind die erwähnte Randschicht, sowie der Sperma-



gang mit dem in ihm enthaltenen dotterkörnchenfreien Protoplasma nur als Differenzirungen oder Anordnungsverhältnisse der Dotterkörnchen im Protoplasma anzusehen, Anordnungen, die jedoch für den Vorgang der Befruchtung von grosser Wichtigkeit sind.

Was die Existenz einer innern Mikropyle betrifft, so finden sich in der Literatur nur spärliche Angaben, die hierauf beziehbar sind. Die erstzuerwährende rührt von KARL ERNST VON BAER<sup>2)</sup> her. Er erwähnt bei Beschreibung der Entwicklung der Furchung des Batrachier-eies ein Loch an der Dotteroberfläche, welches er mit dem zu Grunde gegangenen Keimbläschen in Zusammenhang bringt, welches vielleicht mit jener Einbuchtung und Oeffnung im körnchenhaltigen Dotter bei Petromyzon identisch ist. Ich will hier den Wortlaut seiner Angabe citiren, er sagt (l. c. p. 485): »In dem Puncte, den wir den dunklen Pol genannt haben, ist in dem schwarzen Ueberzug, wenn das Ei gelegt ist, eine Lücke, der Keimpunct. Sie führt durch einen Canal in eine etwas tiefer liegende Hohlung, welche wahrscheinlich von dem verschwundenen Keimbläschen hinterlassen ist.« Es ist die innere Mikropyle des Petromyzoneies! Dieser Befund am Froschei ist dann bald von DUMAS<sup>3)</sup> und PREVOST bestätigt worden. Ein Gleiches geschah später von NEWPORT<sup>4)</sup> und MAX SCHULTZE<sup>5)</sup>. Auch diese Autoren beziehen die erwähnte Oeffnung, wie dies auch GÖTTE<sup>6)</sup> in einer neueren Arbeit thut, auf das zu Grunde gegangene Keimbläschen.

Der Erkenntniss der wahren Verhältnisse kam von den älteren Autoren am nächsten AUG. MÜLLER. Er beschreibt (l. c. p. 409) einen kleinen mondsichelförmigen Aufsatz an dem einen schmalen Ende des Eies, fand ihn aber nicht scharf begrenzt, nicht die Einmündung in einen die Eihaut durchbohrenden Gang darstellend, also sah in ihm nicht die Mikropyle. Er bezeichnet ihn in erwähntem Aufsatz als »Flocke«. Der Autor fand ferner, dass dem Urbläschen (Eikern?) ein rundlicher Körper, der scharf gegen die Umgebung abgegrenzt ist, an der nach der »Flocke« gerichteten Seite aufsitzt. Jener Körper hat die Form eines Säulchens und nennt ihn MÜLLER den »Deckel des Urbläschens«. Soweit die Angaben über das Neunaugenei. Von neueren Autoren hat ins-

2) K. E. v. BAER, Die Metamorphose des Eies der Batrachier vor der Erscheinung des Embryo und Folgerungen aus ihr für die Theorie der Erzeugung. Müller's Archiv 1834 p. 485.

3) PREVOST et DUMAS, Annales des sciences naturelles I. série 1834.

4) NEWPORT, On the Impregnation of the ovum in the Amphibia. p. 476 ff.

5) MAX SCHULTZE, Observationes nonnullae de ovorum ranarum segmentatione. Bonn 1863.

6) A. GÖTTE, Die Entwicklungsgeschichte der Unke. 1875 p. 24. 25 ff.

besondere VAN BAMBEKE bei seinen Untersuchungen, die er in seiner jüngsten Publication<sup>7)</sup> niedergelegt hat, am Batrachierei ähnliche Verhältnisse aufgefunden.

Er beschreibt, dass an der Dotterperipherie eine Stelle nur durch körnchenfreien Dotter eingenommen sei, kann aber daselbst keine Mikropyle (äussere) in der Eibaut auffinden. Er fand ferner an befruchteten Eiern einen Strang dunklen Dotters, der von jenen Häufchen bellen Protoplasmas zum Eikern reicht, da er aber noch einen ähnlichen zweiten Strang bemerkt, den er in Beziehung zum Spermaeintritt bringt, ist er geneigt, den ersterwähnten dunklen Strang in Beziehung zu den Veränderungen des Keimbläschens zu bringen.

HERTWIG<sup>8)</sup> hat in einer neueren Arbeit über dieses Thema auch die Resultate seiner Untersuchung der Froscheier mitgetheilt. Er konnte zum Theil die Angaben VAN BAMBEKE's bestätigen, dagegen fand er nur einen dunklen Strang von der Dotterperipherie zum Eikern gehend und diesen bringt er in Beziehung zum Eintritt des Spermatozoon, er ist der Meinung, dass jener Strang erst durch das Eintreten des Kopfes des Spermatozoon gebildet werde.

Was die äussere Mikropyle betrifft, so ist dieselbe, wie schon erwähnt, von MAX SCHULTZE (l. c. N. 4) am *Petromyzonei* vergeblich gesucht worden, allein ihre Existenz ist bei anderen Fischeiern so ausser allem Zweifel, dass das Fehlen dieses Befundes bei *Petromyzon* nur dadurch zu erklären ist, dass seit jener Zeit (1856) die *Petromyzoneier* wenig untersucht worden sind.

Die Angaben der Autoren über die Veränderungen des Keimbläschens vor der Befruchtung sind theilweis sehr sich widersprechende. Wenn es mir, wie schon mehrfach hervorgehoben, auch nicht gelang, die Veränderungen des Keimbläschens beim *Petromyzonei* in continuirlicher Folge zu beobachten, so war es mir doch möglich, das Anfangs- und das Endstadium jener Veränderungen auf das Genaueste festzustellen und so das Wesentliche jenes Vorganges aufzufinden<sup>\*)</sup>.

Eine Anzahl Forscher, wie PURKINJE<sup>9)</sup>, BAER<sup>10)</sup>, OELLACHER<sup>11)</sup>, GÖTTE

7) VAN BAMBEKE, Recherches sur l'Embryologie des Batraciens. Bulletin de l'Académie royale de Belgique. 2<sup>me</sup> série T. LXI. N. 4. Januar 1876. pag. 6 (TROUTVITELLIN etc. . .).

8) O. HERTWIG, Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Morphol. Jahrb. Bd. III. Heft 4 pag. 4 ff.

9) PURKINJE, Symbolae ad ovi historiam ante incubationem.

10) K. E. VON BAER, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Thiere. 1825—35. Bd. I p. 4 u. 9 u. Bd. II p. 27 u. 157 ff.

11) OELLACHER, Beiträge zur Geschichte des Keimbläschens im Wirbelthiere. Archiv f. mikr. Anat. Bd. VIII p. 4—25.

\*) Vergl. Anmerkung p. 445 dieses Aufsatzes.

(l. c. N. 6), KLEINENBERG<sup>12)</sup>, KOWALEVSKY<sup>13)</sup>, METSCHNIKOFF<sup>14)</sup> und andere, denen sich neuerdings noch AUERBACH<sup>15)</sup> anschloss, wollen das Verschwinden des Keimbläschens vor der Befruchtung sicher constatirt haben und nehmen sie eine Neubildung des Kernes nach Bildung der ersten Furchungskugel in deren Innern aus gewissen Theilen des Eiinhaltes an.

Diesen Angaben stehen die einer Reihe anderer Forscher gegenüber, welche die Ansicht vertheidigen, dass das Keimbläschen nicht verschwinde und dass von demselben der Kern der ersten Furchungskugel direct abzuleiten sei. Diese Ansicht wurde insbesondere von BARRY<sup>16)</sup>, JOH. MÜLLER<sup>17)</sup>, LEYDIG<sup>18)</sup>, GEGENBAUR<sup>19)</sup>, FOI<sup>20)</sup>, VAN BENEDEN<sup>21)</sup> und anderen vertheidigt. Der von diesen Autoren vertheidigten Ansicht sich zum Theil anschliessend, stellten einige Autoren die Meinung auf, dass das Keimbläschen sich zwar auflöse, aber der Keimfleck bleibe erhalten, und dieser werde zum Kern des reifen Eies. Diese Autoren waren DERBÈS<sup>22)</sup> und K. E. V. BAER<sup>23)</sup> in einer neuen Arbeit.

Eine gewissermassen vermittelnde Stellung nimmt O. HERTWIG<sup>24)</sup> in seiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand ein. Er bemerkt auf pag. 370 jener Arbeit, dass von den Autoren zwei Sachen mit einander verwechselt worden sind, nämlich das Keimbläschen des unreifen Eies

12) KLEINENBERG, Hydra. Leipzig 1872.

13) KOWALEVSKY, Entwicklung der Rippenquallen. 1866.

14) METSCHNIKOFF, Studien über die Entw. der Medusen und Siphonophoren. Diese Zeitschrift. Bd. XXIV, Hft. 4.

15) AUERBACH, Organologische Studien, Heft II.

16) BARRY, Neue Untersuchungen über die schraubenförmige Beschaffenheit der Elementarfasern der Muskeln nebst Beobachtungen über die muskulöse Natur der Flimmerkörnchen. Archiv f. Anat. und Physiolog. 1850.

17) JOH. MÜLLER, Ueber d. Erzeugung von Schnecken in Holothurien. Archiv f. Anat. u. Phys. 1852.

18) LEYDIG, Ueber den Bau und die systematische Stellung der Rädertiere. Diese Zeitschrift. Bd. VI. p. 28 u. 102.

19) GEGENBAUR, Lehre vom Generationswechsel der Medusen u. Polypen. p. 24—28 und Untersuchung über Pteropoden und Heteropoden. p. 66 u. 180.

20) FOI, Die erste Entwick. des Geryonideneies. Jenaische Zeitschr. Bd. VII, p. 474.

21) VAN BENEDEN, Recherches sur la composition et la signification de l'oeuf. Bruxelles. 1870. p. 23 f.

22) DERBÈS, Observations sur le mecanisme et les phénomènes, qui accompagnent la formation de l'embryon chez l'oursin comestible. Annal. des science. 1847. T. VIII, p. 83.

23) K. E. VON BAER, Neuere Untersuchungen über die Entwicklung der Thiere. Fries's neue Notizen. Bd. 39. p. 38.

24) O. HERTWIG, Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Morph. Jahrb. Bd. I. p. 347 ff.



und das Gebilde, welches er als Eikern bezeichnet hat. Er lässt unter zu Grunde gehen des Keimbläschens den Keimfleck austreten und letztern unter weiterer Umwandlung den Kern des befruchtungsfähigen Eies bilden. Diesen neuen Kern bezeichnet er als Eikern.

Hieran anschliessend will ich die Ansichten der Autoren über die Reifung des Eies anfügen. Durch neuere Arbeiten ist für eine grosse Anzahl verschiedener Thiere sicher festgestellt worden, dass die Reifung des Eies mit Veränderungen einhergeht, die mit der Ausstossung eines Theiles des Eies, des sogenannten Richtungskörperchens, ihren Abschluss erreichen und damit fällt die ganze Frage der Reifung des Eies mit der Bildung und der Ausstossung des Richtungskörperchens zusammen.

Die Angaben über das Auftreten eines Körperchens innerhalb der Eihaut mit oder nach dem Beginn der ersten Furchung oder noch vor der Befruchtung sind schon sehr alt. Im Jahr 1845 veröffentlichte FREY<sup>25)</sup>, dass bei der Entwicklung der Eier von *Nephelis* ein helles Bläschen neben dem Dotter auftrete, er hielt dasselbe für den ausgetretenen Keimfleck. Ein weiterer Beobachter war RATHKE<sup>26)</sup>; dieser Autor legte dem von FREY beschriebenen Kügelchen keine Bedeutung bei und sah in ihm (er untersuchte auch Eier von *Nephelis*) einen sehr kleinen Theil des vom Ei ausgestossenen Liquor vitelli, des gallertartigen Bindemittels der Dotterkörnchen. Weitere Angaben machte ROBIN<sup>27)</sup>. Nach diesem Forscher tritt aus dem befruchteten Ei an einer Seite des Eidotters eine Kugel hervor, die sich mit einem Stiel abschnürt, später tritt, mit jener ersten durch den Stiel zusammenhängend, noch eine zweite und dritte Kugel hervor, die nun wie die Perlen einer Perlen schnur zusammenhängen. Er verneint den Zusammenhang dieser Gebilde mit den Keimbläschen und betrachtet dieselben nur als Theile der homogenen Grundsubstanz des Eies.

In einer späteren Arbeit beschreibt ROBIN<sup>28)</sup> die Neubildung des Eikernes, der etwa 10 Stunden nach der Abschnürung des letzten Richtungskörperchens erfolgt.

Viel ausführlichere Mittheilungen über dieses Gebilde macht

25) FREY, Die Entwicklungsgeschichte des gemeinen Blutegels. Götting. Gelehrte. Anzeigen 1845.

26) RATHKE, Beiträge zur Entwicklungsgesch. der Hirudineen, herausgegeb. v. LEUCKART. 1862.

27) ROBIN, Journal de la physiologie de l'homme et des animaux 1862, ferner in den »Annales des sciences naturelles zoolog.« 4<sup>me</sup> Serie T. XVIII, p. 5 ff. 1862.

28) CH. ROBIN, Mémoires sur la production du Blastoderme chez les articulés. Journal de la physiologie, d. l'homme etc. 1862. T. V, p. 348.

BÜTSCHLI<sup>29)</sup>, der ebenso wie ROBIN das Hirudineenei untersuchte. BÜTSCHLI fand im frisch gelegten Ei einen spindelförmigen Kern, den er für das umgewandelte Keimbläschen hält. Dieser rückt bald bis zur Eiperipherie vor und wird an die Oberfläche hervorgeschoben. Ein Theil desselben ragt geradezu über die Eiperipherie hinaus. Inzwischen hat sich der spindelförmige Kern in 3 Abschnitte zerlegt. BÜTSCHLI macht nun weitere Angaben über die Bildung des Furchungskernes (HERTWIG l. c. N. 24). Erfindet zu der Zeit, wo das Ei erst einen kleinen Theil der erwähnten Spindel ausgestossen hat, im Dotter ein Strahlensystem, welches Anfangs näher der Peripherie gelegen, allmählig mehr dem Eicentrum sich nähert und hier entsteht nach Ausstossen jenes spindelförmigen Elementes, des Richtungskörperchens, ein Kern. Bald erscheint im Dotter an der Stelle, wo das Richtungskörperchen sich abgeschnürt hatte, ein zarter Kern, beide Kerne verschmelzen nunmehr miteinander und bilden dann den Furchungskern. Nach BÜTSCHLI ist das ausgestossene Richtungsbläschen am Ei der Hirudineen das Keimbläschen und zwar das ganze. Ob diese Vorgänge von der Befruchtung abhängig oder unabhängig sind, lässt er unentschieden. In dem Anhang zu seiner Arbeit (l. c. p. 220) spricht er sich dahin aus, dass möglicherweise doch ein Theil des Keimbläschens im Ei zur Bildung des Furchungskernes zurückbleibe. O. HERTWIG (l. c. N. 8) hat gleichfalls seine neuesten Untersuchungen über jenes Gebilde an den Eiern von Hirudineen angestellt (Hämopis). Er kommt zu dem Schluss, dass das Keimbläschen der Eier zu Grunde geht, aber aus Theilstücken des Nucleolus und einem Reste des Kernsaftes ein faseriger spindelförmiger Kern entstehe. Die weiteren Veränderungen, die dieser Autor am Hirudineenei beschreibt, schliessen sich, soweit sie die äusseren Vorgänge im Auftreten des Richtungskörperchens betreffen, an die von ROBIN (l. c. N. 27) gegebene Schilderung genau an. In Bezug auf die innern Vorgänge, die Umwandlung des Kernes etc., stimmt HERTWIG mehr mit BÜTSCHLI überein. Nach HERTWIG tritt die eine Hälfte des spindelförmigen Kernes in den austretenden Richtungskörper ein, die andere Hälfte constituirt sich zum Eikern und vereinigt sich nach der Befruchtung mit dem Spermakern zum Furchungskern.

Der Autor betont, dass die Abtrennung der Theile des Keimbläschens, die mit dem Richtungskörper austreten, als eine Zellknospung aufzufassen sei. Er hebt ferner hervor, dass vom Keimbläschen bis zum Furchungskern ein ununterbrochener Zusammenhang zwischen den

29) BÜTSCHLI, Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zelltheilung und die Conjugation der Infusorien. Abhandl. der Senkenberg'schen naturf. Gesellschaft. Bd. X, p. 3—10.

verschiedenen Kernarten herrsche; den Furchungskern lässt er aus der Conjugation zweier geschlechtlich verschiedener Kerne entstehen, eines weiblichen, der von dem Keimbläschen, und eines männlichen, der von dem eingedrungenen Spermatozoon abstammt. HERTWIG verlegt zeitlich die Bildung des Richtungskörperchens vor den Eintritt der Befruchtung, obgleich die Eier sich nur dann entwickeln, wenn sie vorher befruchtet worden sind! Den Richtungskörper betrachtet er also einfach als den überflüssigen unbrauchbaren Theil des Eies. Aehnliche Angaben macht HERTWIG bei Beschreibung der Entwicklung anderer Thiereier. Er hat in neuester Zeit <sup>30)</sup> seine Untersuchungen über die Entwicklung des Eies vor und nach der Befruchtung auf eine grosse Reihe von Eiern verschiedener Thiere ausgedehnt. So hat er die Eier von *Asteracanthion* und *Toxopneustes*, ferner solche von Coelenteraten, Würmern, Heteropoden und anderen Mollusken untersucht, und überall die oben beschriebene Bildungsart der Kernspindel und das Auftreten des Richtungskörperchens, welches theilweis vor, theilweis nach erfolgter Befruchtung erschien, constatiren können. HERTWIG hat, wie schon erwähnt (l. c. N. 8) auch Untersuchungen über die Entwicklung der Eier von *Rana temp.* und *escul.* angestellt. Was den Bau der Eier betrifft, so habe ich das Wesentliche schon oben erwähnt. HERTWIG constatirt wie VAN BAMBEKE und GÖTTE ein völliges Verschwinden des Keimbläschens, nachdem dasselbe ganz nahe an die Dotteroberfläche gerückt ist; in Bezug auf letztern Befund ist die gegentheilige Angabe VAN BAMBEKE'S zu erwähnen, der (l. c. N. 7) das Keimbläschen im Dotter am Ende des von ihm als Figur »claviforme« beschriebenen Strangs dunkler Substanz zu Grunde gehen lässt. HERTWIG findet, wie dies schon früher von MAX SCHULTZE (l. c. N. 5) bei *Rana* und von OELLACHER (l. c. N. 41) bei Knochenfischen beobachtet worden ist, dass an der Stelle, wo das Keimbläschen nahe der Peripherie des Dotters lag, eine schleimartige Masse ausgeschieden sei, welche er für das ausgetretene Keimbläschen hält und die er somit dem Richtungskörperchen der Eier niederer Thiere gleichstellt, wenn er auch bekennt, dass bei den Hirudineen das Richtungskörperchen sicher durch Zelltheilung entsteht, eine Thatsache, welche er bei *Rana* nicht ermitteln konnte. Die widersprechenden Angaben VAN BAMBEKE'S und HERTWIG'S über die »Pigmentstrassen« oder Stränge dunkler Substanz im Dotter habe ich oben schon hervorgehoben. Erwähnen will ich noch, dass HERTWIG bald nach der Befruchtung im Innern des Eies mehr im Centrum desselben einen Kern ent-

30) O. HERTWIG, Weitere Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Morphol. Jahrb. Bd. III. Hft. 2, p. 274 ff.



stehen sehen konnte, den er von dem Kernkörperchen des Keimbläschens ableitet. Er konnte ferner nach der Befruchtung einen Spermakern constatiren, der mit dem im Centrum gelegenen Kern zum Furchungskern zusammentritt.

Fassen wir diese Angabe der Autoren über die Bildung des Richtungskörperchens und die Umwandlungen, die das Keimbläschen erfährt, zusammen, so ergibt sich, dass mit mehr oder weniger Bestimmtheit ein Verschwinden und zu Grunde gehen des Keimbläschens angeführt wird, das Kernkörperchen jedoch sich als Eikern neu constituirt. Erst letzteres ist befruchtungsfähig und kann sich mit einem Spermatozoon (Spermakern) zum Furchungskern vereinigen.

Was das Richtungskörperchen betrifft, dessen Vorkommen bis jetzt nur bei wirbellosen Thieren zweifellos nachgewiesen ist, so kann es als sicher gelten, dass dessen Auftreten in den engsten Beziehungen zur Reifung des Eies steht. In ihm sind jedenfalls Theile des Keimbläschens enthalten, die auf diese Weise den Eidotter verlassen, während der andere Theil des Keimbläschens das Material zum Aufbau des Kerns des reifen befruchtungsfähigen Eies, des Eikerns, bildet. Nach den neuesten Untersuchungen (HERTWIG) steht es zweifellos fest, dass die Umwandlungen des Keimbläschens zum Eikern und die Bildung des Richtungskörperchens unabhängig von der Befruchtung eintreten.

Vergleichen wir die hier im Kurzen mitgetheilten Ansichten der Autoren mit den Befunden am *Petromyzonei* und den bei Mittheilung jener Ergebnisse ausgesprochenen Ansichten: eine Uebereinstimmung dieser Befunde und deren Deutung mit den Angaben der Autoren über jene Veränderungen an andern Eiern lässt sich nicht verkennen. Im *Ammocoetes*-Ei haben wir noch das unveränderte Keimbläschen; dieses wandert an die Peripherie und ist es wahrscheinlich, mir gelang es zwar nicht dies zu beobachten, dass es daselbst sich zum Eikern umbildet, der nun, wie dies ja auch bei andern Eiern stattfindet, wieder in das Eiinnere rückt. Die Ausstossung eines Theiles des Keimbläschens, oder richtiger gesagt, die Umwandlung des Keimbläschens zum Eikern erfolgt, wie dies oben schon erwähnt wurde\*), mit dem Ende des Larvenstadiums. Jedenfalls besitzen völlig ausgebildete *Petromyzon*-weibchen selbst vor der Laichzeit Eier mit einem Eikern.

Vor Allem sind hier noch die Angaben AUG. MÜLLER's zu besprechen: Wie aus dem oben gegebenen Referat seiner Beobachtungen hervorgeht, hatte er die äussere Mikropyle, die innere Mikropyle und den Sperma- gang deutlich beobachtet, ohne jedoch für das eine noch für das andere

\*) Vergl. Anmerkung p. 445 dieses Aufsatzes.

die richtige Erklärung zu finden. Er sah die Verdickung der Eihaut an der Stelle, wo sich die äussere Mikropyle befindet und dass sein »Deckel des Urbläschens« nichts anderes ist als das dotterkörnchenfreie Protoplasma des Spermaganges ist ausser allem Zweifel. AUG. MÜLLER hatte einen Theil seiner Beobachtungen am noch nicht völlig reifen Eierstocks-ei (vgl. meine Figur 49) gemacht, und ferner hatte er als Härtingsflüssigkeit Salpetersäure benutzt, wodurch man allerdings solche Präparate erhält, die den Eindruck machen, als sitze der Inhalt des Spermaganges, den er übrigens weit kürzer, wie ich, findet, wie ein Deckel dem Urbläschen (Eikern?) auf.

Ehe ich zur Beschreibung des Befruchtungsvorgangs selbst übergehe, will ich noch den Bau der Spermatozoen von *Petromyzon* beschreiben.

Die Samenkörperchen von *Petromyzon* sind nicht wesentlich verschieden von denen der Batrachier gebaut, nur ist das Vorderende des Kopfes nicht so scharf zugespitzt wie bei denen von *Rana*. Sie bestehen aus einem langen walzenförmigen Kopf, an den sich ein kurzes dünnes Mittelstück anschliesst, und einem langen sehr kräftige Actionen vollführenden Schweif (Fig. 20). Ohne Zusatz von Flüssigkeit, z. B. Wasser, behalten sie, wenn sie sofort nach dem Herausnehmen aus dem lebenden Thier in eine feuchte Kammer gebracht werden, bis zu 40 Minuten ihre Bewegungsfähigkeit. Bis zu 9 Minuten auf solche Weise aufbewahrt, bewiesen sie sich auch noch befruchtungsfähig. Letztere Eigenschaft und damit auch ihre Bewegungsfähigkeit büssen sie in Wasser gebracht schnell ein. In Wasser von 8—12° C. können sie jedoch bis zu 1 $\frac{1}{4}$ —1 $\frac{3}{4}$  Minute bewegungs- und befruchtungsfähig erhalten werden.

Diese letztere Eigenschaft ist insofern wichtig, als sie gestattet auch mit verdünntem Sperma die Befruchtung der Eier auszuführen, und so es ermöglicht wird, jenen Vorgang besser zu controliren, insbesondere wenn es gilt den Eintritt des Spermatozoon in das Ei genau zu beobachten.

Ich wende mich nun zur Mittheilung meiner Beobachtungen über den Befruchtungsvorgang. Zur Anstellung der Beobachtung dieses Vorganges wurde ein soeben dem Weibchen entnommenes reifes Ei in einem flachen Glasschälchen in die oben beschriebene Lage gebracht, in welcher die äussere Mikropyle im grössten optischen Querschnitt des Eies liegt. Meist ist unter mehreren Eiern, die in ein solch' flaches Schälchen gebracht werden, eins schon in der gewünschten Lage. Wie oben schon erwähnt, gelingt es in Folge der beschriebenen Eigenschaften der

Eihaut leicht, das Ei in jeder wünschenswerthen Lage zu befestigen, in Folge davon kann man in dem Gefäss Wasserströmungen hervorrufen, ohne dass dadurch die Lage der Eier geändert wird, ein grosser Vortheil bei der Anstellung der Beobachtung des Befruchtungsvorganges.

Hat man ein Ei in der gewünschten Lage fixirt, so bringt man dasselbe unter das Mikroskop und stellt letzteres genau auf das Centrum der äusseren Mikropyle ein. Es empfiehlt sich daher die Mikropyle in das Centrum des Gesichtsfeldes zu rücken. Alle meine Beobachtungen über den Befruchtungsvorgang machte ich mit HARTNACK's Objectiv V und Ocular I, II oder III bei ausgezogenem Tubus. Dabei muss allerdings die Linse in das das Ei umgebende Wasser eingetaucht werden, um dem Ei nahe genug zu kommen, man erhält aber trotzdem mit der wider Willen dargestellten Stipplinse ein sehr schönes und äusserst scharfes Bild.

Wird das Objectiv oft abgewischt, so leidet es nicht einmal durch diese Art der Benutzung.

Hat man so die äussere Mikropyle gut eingestellt, so bringt man in ein grosses Uhrglas, welches mit kaltem Wasser angefüllt ist, durch Ausstreichen eines kräftigen lebendigen Männchens einen Tropfen Sperma. Dieses Ausstreichen wird in derselben Weise vorgenommen, wie ich es oben bei Behandlung des Weibchens behufs der Eiererlangung beschrieben habe. Mittelst einer feinen Pipette wird jetzt jener Spermatropfen schnell mit dem Wasser gemischt und von diesem Gemisch eine minimale Menge in das Gefäss mit den Eiern unter dem Mikroskop gebracht. Die zu diesem Zweck verwendeten Pipetten waren oben mit einer Gummiblase verschlossen, wodurch man im Stande war, wenn die Pipettenspitze in das Wasser, in welchem sich die Eier befinden, tauchte, durch mehrfaches Zusammendrücken der Blase in jenem Wasser eine lebhafte Strömung zu veranlassen. Durch diese Manipulation wurden die wenigen in das Wasser zu den Eiern gebrachten Spermatozoen im ersteren gleichmässig vertheilt.

Beobachtet man nun das Ei, so sieht man, wie ein sich kräftig bewegendes Samenkörperchen sich der Gegend der Mikropyle nähert. Sein Schweif macht kräftige Bewegungen und treibt dadurch das Vorderende vorwärts, allein eine plötzlich eintretende Wasserströmung ändert den Lauf unseres Spermatozoon und es trifft die Eihaut an einer lateral der Mikropyle gelegenen Stelle, hier bleibt es zwischen den aufgequollenen Zacken hängen und kann trotz der kräftigsten Bewegungen nicht weiter vorwärts dringen. Endlich stirbt es ab, ohne dass durch den Contact des Spermatozoon mit der Eihaut im Innern des Eies Veränderungen angeregt worden wären. So kann man beobachten, wie



manches Samenkörperchen die Eihaut erreicht, jedoch wenn dies an einer ausserhalb der Mikropyle gelegenen Stelle geschieht, einfach absterbt. Aus diesen Beobachtungen geht mit Sicherheit hervor, dass die Eihaut an und für sich durch das Samenkörperchen nicht durchbohrt werden kann.

Setzen wir unsere Versuche fort, fügen den Eiern, nachdem das Wasser gewechselt worden ist, aufs neue etwas von dem wieder frisch bereiteten Gemisch von Sperma und Wasser zu und betrachten wir wieder die äussere Mikropyle. Wieder sehen wir, dass ein sich kräftig bewegendes Samenkörperchen derselben nahe kommt, und jetzt bemerkt man, wie dasselbe dem Centrum derselben zusteuert. Man sieht nun deutlich, wie es die Eihaut im Centrum der Mikropyle berührt und wie sich der Kopf desselben, durch die kräftigen Undulationen des Schweifes unterstützt, den Weg durch den Mikropylencanal eröffnet. Bald ist der Kopf des Spermatozoons schon im Durchtreten durch die äussere Mikropyle, während der Schweif immer noch kräftig wedelnd sich ausserhalb der Eihaut befindet. Mit dem weiteren Vorwärtsdringen des Kopfes, man kann dies, da die Eihaut sehr durchsichtig ist, auf das klarste sehen, zieht sich auch der Schweif des Samenkörperchens mehr in die Tiefe der Mikropülenöffnung hinein. Man bemerkt jetzt, wie der Kopf des Spermatozoon aus der inneren Oeffnung der äusseren Mikropyle hervortretend das derselben innen anliegende körnchenfreie Dotterprotoplasma berührt. Betrachtet man jetzt die Peripherie des Dotters in der Umgebung der Mikropyle, so bemerkt man, wie der lateral letzterer gelegene Theil des Dotters sich um ein wenig von der Eihaut entfernt (Fig. 5 od. A1), und dadurch erscheint im optischen Querschnitt jener Theil des Dotters, der der äussern Mikropyle gegenüber gelagert ist, berg- oder kraterförmig erhoben. Diese Veränderung, zeitlich mit dem Erscheinen des Spermatozoonkopfes an der innern Oeffnung der äussern Mikropyle zusammenfallend, tritt meist 12—15 Secunden nach Berührung der äussern Mikropülenöffnung durch das Samenkörperchen ein. Nie tritt jene Veränderung ein, ehe der Kopf des Spermatozoon die äussere Mikropyle durchwandert hat. Jene Veränderung wird also hervorgerufen durch den Contact des Spermatozoonkopfes mit der Dotteroberfläche (Fig. A2).

Kaum ist jedoch diese Veränderung vor sich gegangen, als sich dem Auge eine neue Erscheinung darbietet. Während erst der Dotter rings um die Mikropyle sich um ein minimales zurückgezogen hatte, zieht sich jetzt der körnchenhaltige Dotter von der Mikropyle selbst zurück, und nun erscheint jene dort früher constatirte und ausführlich beschriebene körnchenfreie Dotterprotoplasmaschicht zu einem breiten

Band ausgezogen, welches von der innern Oeffnung der äussern Mikropyle zur innern Mikropyle geht (Fig. 5, 6 und 45 u. 4). In jenem Band, welches nur der Ausdruck des optischen Querschnittes eines Stranges ist, sieht man jetzt den Kopf des Spermatozoon erscheinen und bemerkt, wie derselbe der Oeffnung der innern Mikropyle zusteuert (Fig. 7). Dieser ganze Act nimmt höchstens 2—3 Secunden in Anspruch. Den Kopf des Spermatozoon kann man deutlich sehen, auch scheint es als wenn ein Theil des Mittelstückes mit in das Eiinnere eintrete. Der Schwanz bleibt, es lässt sich dies auf das Genaueste feststellen, jedenfalls ausserhalb des Eies, er tritt nicht in das Eiinnere ein, sondern er verstopft die äussere Mikropyle und hindert somit den Eintritt eines weiteren Samenkörpers.

Der Strang körnchenfreien Protoplasmas bildet den Weg von der äusseren zur inneren Mikropyle für einen Theil des Spermatozoon. Da von der inneren Mikropyle sich, wie dies oben ausführlich beschrieben wurde, gleichfalls ein Strang körnchenfreien Protoplasmas ins Eiinnere bis zum Eikern forterstreckt, so ist in jenem Strang, dem Leitband des Spermatozoon, der beste und am leichtesten zurückzulegende Weg für den wirksamen Theil des Spermatozoon gegeben.

Ausser jenem Strang, den ich als das Leitband des Samens bezeichne, bemerkt man, wie mit der weiteren Entfernung der Eihaut vom Dotter feine Fäden sich von der innern Oberfläche der Eihaut zur Dotteroberfläche ausspannen. Es entstehen dieselben dadurch, dass infolge der Entfernung der Eihaut vom Dotter die aus klebrig-flüssigem körnchenfreien Protoplasma bestehende Randschicht des letztern ausgedehnt wird. Da jene Randschicht der Eihaut fest adhärirt, indem sie die feinen Poren derselben verstopft, weicht sie nicht einfach in toto mit dem übrigen Dotter zurück, sondern wird zu den erwähnten feinen Fäden ausgezogen (Fig. 7, 8 u. 45—7). Die Entfernung der Eihaut vom Dotter geht immer weiter vor sich, so dass bald die halbe Dotterperipherie von dem Zusammenhang mit der Eihaut befreit ist. Immer geht jedoch dieses Auseinanderweichen unter der beschriebenen, ein äusserst zierliches Bild darbietenden Fädenbildung vor sich. Die erwähnten Fäden haben meist zwei kleine dreieckige Basalplatten, aus deren einer Spitze dann der Faden heraustritt (Fig. 45, 46 u. Fig. 7 u. 8). Manchmal geht die Entfernung der Eihaut vom Eidotter so schnell vor sich, dass es zwischen den Mikropylen nur für einen Augenblick zur Bildung eines Stranges, des Leitbandes, kommt, durch den dann schnell der Spermatozoonkopf hindurchschlüpft. In einem solchen Fall löst sich das Leitband in einige feine Fäden auf, unter denen meist ein stärkerer Centralfaden auffällt; er ist der Rest des Leitbandes. In solchen Fällen

bemerkt man dann, dass die mehr peripher gelegenen Fäden, die durch Reissen des Leitbandes entstanden sind, nach der Mitte, nach dem Centrifaden zusammenfliessen, um endlich auch zu reissen (Fig. *A 5—11*). Indem ich soeben einen Ausnahmefall schilderte, habe ich gewissermassen schon das Ende des Leitbandes im normalen Falle mitgetheilt. Auch das sich normal bildende Leitband bleibt nicht bestehen, sondern es reisst auch, wenn auch darüber 40—45 Secunden und auch mehr vergehen.

Ich will jetzt in der Beschreibung des normal verlaufenden Befruchtungsvorganges fortfahren von dem Moment an, wo der aus dotterkörnchenfreier Substanz gebildete Strang, das Leitband des Samens, die grösste Breite (Durchmesser) besitzt und man in seinem Innern den Kopf des Spermatozoon der innern Mikropyle zusehen sah (Fig. 7, *A 3, A 4*). Nach kurzer Zeit bemerkt man, dass der Strang sich mehr in die Länge auszieht und endlich wird er so dünn, dass man jeden Augenblick erwarten muss, dass derselbe reisst. Betrachtet man jetzt den centralen Theil des Stranges genauer, so kann man einen schwer zu beschreibenden, aber äusserst zierlichen Vorgang, den ich oben schon flüchtig erwähnte, bemerken. Man sieht, wie solche feine Protoplasmafäden, die von der Innenfläche des der Innenöffnung der äussern Mikropyle benachbarten Theiles der Eihaut zur Oberfläche des Dotters in der Umgebung der innern Mikropyle gehen, geradezu auf das in Theilung begriffene Leitband zufliesen (Fig. *B 9—11* u. Fig. 8) und auf diesem immer weiter nach oben d. h. der äussern Mikropyle zu verlaufen, um endlich mit den noch übrigen ein oder zwei Centrifäden, die von der äussern Mikropyle zur höchsten Erhebung des centralen Theiles des soeben gerissenen Leitbandes verlaufen, zu verschmelzen (Fig. *B 10—B 12*). Oft reissen jedoch diese lateral gelegenen Fäden noch ehe sie mit dem Rest des Leitbandes, dem Centrifaden, verschmelzen konnten. Endlich reisst auch der Centrifaden und jetzt besteht keine Verbindung mehr zwischen Eihaut und Dotter, denn zu dieser Zeit hat sich die erstere überall von der gesammten Oberfläche des Dotters entfernt. Der eben beschriebene Vorgang bietet ein wechselvolles Bild von äusserster Zierlichkeit dar. Als Reste der gerissenen Fäden finden sich jetzt an der Innenfläche der Eihaut und an der Oberfläche des körnchenhaltigen Dotters kleine Bläschen von verschiedener Form, die besonders an der innern Mündung der äusseren Mikropyle, wo sie durch Reissen des Leitbandes entstanden sind, sich durch eine gewisse Grösse auszeichnen können (Fig. *A 11—14, B 13* u. Fig. 9). Dass dieselben dem Reissen der beschriebenen Fäden ihre Entstehung verdanken, konnte auf das genaueste beobachtet werden.



Wenn endlich nach den soeben geschilderten Erscheinungen auch die letzten Fäden gerissen sind, so zieht sich in der Mehrzahl der Fälle das dem Dotter angehörige Ende des Leitbandes in das Dotterinnere zurück. Bald aber erscheint an derselben Stelle, meist 10—15 Sekunden nach dem völligen Verschwinden des Leitbandrestes, ein helles Bläschen, welches gebildet aus körnchenfreiem Protoplasma, aus der innern Mikropyle hervortritt. Oft hat sich jedoch das dem Dotter angehörige Leitbandende nur soweit in den Dotter zurückgezogen, dass man nur eine minimale Menge dotterkörnchenfreier Substanz (Fig. A11) aus der innern Mikropyle hervorragen sieht. In manchen Fällen, besonders wenn das aus dotterkörnchenfreier Substanz gebildete Leitband sehr dick war, kommt es überhaupt zu gar keinem Zurückweichen des dem Dotter angehörigen Endes des Leitbandes in das Dotterinnere, sondern dieses Ende bleibt in Form eines Bläschens oder eines grossen Protoplasmatropfens über die Dotterperipherie hervorragend in loco liegen (Fig. B43). Alle diese verschiedenen Bilder sind jedoch nur Abstufungen ein und desselben Vorganges, der Leitbandbildung und des Reissens derselben.

Was das Wiederhervortreten des ganz oder nur theilweis in den Dotter, in die innere Mikropyle zurückgetretenen Endes des Leitbandes betrifft, so komme ich weiter unten ausführlich auf die Erklärung dieses Vorganges zu sprechen; erwähnen will ich hier nur, dass, selbst wenn das Ende des Leitbandes in loco ausserhalb des Dotters liegen blieb, es nach einer gewissen Zeit, meist etwa 10—15 Sekunden später, nochmals grösser wird und weiter hervortritt. Die kleinen Protoplasmakugeln oder Tropfen, welche an der Innenfläche der Eihaut sich finden, — ihre Entstehung war ja oben ausführlich mitgetheilt worden, — sind auch durchsichtig und bestehen aus weiter nichts wie dotterkörnchenfreiem Protoplasma, ich nenne sie Randtropfen, nur gelegentlich finden sich in ihrem Innern einige Körnchen!

Betrachten wir jetzt die Veränderungen, die das Dotterende des Leitbandes, für welches ich, sowie es als Protoplasmatropfen über die Dotterperipherie hervortritt, den Namen Dottertropfen vorschlage, weiter erleidet.

Zuerst hängt derselbe durch einen breiten Stiel mit dem Dotter, mit der Umrandung der inneren Mikropyle zusammen. Allein bald wird jener Stiel immer dünner und meist nach  $\frac{1}{2}$  Minute, oft auch in noch kürzerer Zeit nach der völligen Ausbildung des Dottertropfens, scheint derselbe nur noch durch einen feinen dünnen Stiel, der jeden Augenblick zu reissen droht, mit dem Dotterinneren verbunden (Fig. B43 und Fig. 40). Jetzt kann man bei günstiger Einstellung die innere Mikro-

pyle und die sie umgebende Vertiefung, die innere Mikropylengrube, auf das deutlichste sehen. Auf Schnitten ist ihre Existenz zu jeder Zeit nachzuweisen.

In dieser Situation bleibt das Ei eine Zeitlang unverändert, ehe sich weitere Erscheinungen, die ein Zurückziehen des Dottertropfens einleiten, bemerkbar machen.

Ehe ich auf diese Veränderungen eingehe, muss ich noch einen Vorgang, der das Ei im ganzen betrifft, genauer besprechen.

Alle Autoren, die über die Entwicklung niederer Wirbelthiere gearbeitet haben, geben übereinstimmend an, »dass der Dotter sich nach der Befruchtung von der Eihaut zurückziehe«. Sie fassen diesen Vorgang als einen Contractionsvorgang des Eidotters auf, der durch den Eintritt des Spermatozoon in denselben hervorgerufen wird.

Diese Angaben sind jedoch nicht richtig, sie stimmen weder für die Eier von *Petromyzon*, noch für die Eier der Batrachier und die der Teleostier, deren Entwicklung ich in Bezug auf diese Frage auch untersucht habe. Der ganze Vorgang ist ein anderer. Wie erwähnt zieht sich allerdings der Dotter lateral der Mikropyle sofort nach dem Eintritt eines Samenkörperchens etwas und zwar um ein minimales von der Eihaut zurück (Fig. 5), aber dieser Vorgang ist nur die Einleitung zu einer weit intensiveren Veränderung, der die Eihaut unterliegt. Genaue Messungen mittelst des Zeichenprismas (OBERMÄSSER), die während des Befruchtungsvorganges angestellt wurden, erwiesen es als zweifellos, dass der Dotter sich nicht contrahirt, dagegen die Eihaut sich enorm ausdehnt. Man vergleiche nur die Figuren 1, 5, 6, 10 und 12, die sämtlich von dem nämlichen Ei bei gleicher Vergrößerung angefertigt worden sind. Allerdings nimmt der Dotter, nachdem er von der Eihautberührung befreit worden ist, eine andere Form an, d. h. er geht von der Ellipsoidform in die Kugelform über, aber dies geschieht ohne Volumsverminderung. Diese Ausdehnung der Eihaut ist leicht erklärlich. Wie schon erwähnt, ist dieselbe eine Cuticularbildung, also ein Gebilde, von dem wir wissen, dass es unter Umständen sehr quellungsfähig ist, wir wissen ferner aus der Beschreibung des Baues der Eihaut, dass dieselbe für Wasseraufnahme durch die zahllosen sie durchsetzenden feinen Porencanäle sehr geeignet ist, und ist somit ein Quellungsvorgang der Eihaut, der dieselbe geschmeidig und dehnbar macht, leicht verständlich.

Mit dem Zurückweichen der Eihaut vom Dotter entsteht zwischen beiden ein freier Raum; erst ist derselbe, wie schon erwähnt, nur in der näheren Umgebung der Mikropyle vorhanden, bald aber, etwa eine Minute oder noch eher nach dem Beginn des Befruchtungsvorganges, ist

der ganze Dotter von der Eihaut isolirt. Dieser Raum zwischen Eihaut und Eidotter ist mit Wasser ausgefüllt, welches einzig und allein durch die feinen Poren der Eihaut eingedrungen sein kann. Befruchtungsversuche in Wasser, welches durch einen Farbstoff gefärbt war, — ich fand dazu am geeignetsten eine 0,5% Indulinlösung\*), welche bei intensiver Färbung die Spermatozoen nicht tötet, — stellte diese Ansicht auf das zweifelloseste fest. An der äusseren Mikropyle kann zwar beim Beginn des Befruchtungsactes etwas Wasser eintreten, die Hauptmasse desselben tritt jedoch durch die feinen Porenkanäle der Eihaut ein. Behufs der Untersuchung dieses Vorganges verfuhr ich folgendermassen: Die zu befruchtenden Eier brachte ich in die 0,5% Indulinlösung, und stellte wie gewöhnlich die äussere Mikropyle in das Centrum des Gesichtsfeldes des Mikroskopes ein. Ich brachte nun in das Schälchen, worin sich die Eier befanden, frische Spermatozoen, und sowie ich bemerkte, dass die Befruchtung gelang, dass die Eihaut eine Strecke weit von dem Dotter abgehoben war, wechselte ich schnell das Wasser, brachte an Stelle des gefärbten reines Wasser und sah nun, wie zwischen der Eihaut und dem Dotter, soweit beide getrennt waren, eine Zone gefärbter und eine Zone ungefärbter Flüssigkeit erschien. Letztere wurde, so lange das Ei sich in reinem Wasser befand, mit dem Fortschreiten der Loslösung der Eihaut vom Dotter immer grösser. Brachte ich ein solches Ei durch vorsichtiges Wechseln des Wassers nochmals in die Farbstofflösung und dann wieder in das reine Wasser, so zeigte sich eine zweite Zone gefärbter Flüssigkeit zwischen der Eihaut und dem Dotter. Die Flüssigkeiten konnten nur durch die Eihaut eingedrungen sein, denn da das reine Wasser so gleichmässig auf das gefärbte Wasser folgte, kann dies nur dadurch bewirkt worden sein, dass an allen Stellen der Eipеріe Wasser in den Eihaut-Dotterraum eindringt. Denn wenn nur durch die äussere Mikropyle Wasser eintreten würde, so wäre jene erst vorhandene Zone gefärbter Flüssigkeit wohl sofort durch die durch das eintretende reine Wasser entstandene Strömung zerstört worden und die Farbstofflösung würde sofort mit dem reinen Wasser vermischt worden sein. Da aber durch ein Wiedereinbringen der Eier in gefärbtes Wasser aufs neue eine regelmässig gebildete Zone gefärbter Flüssigkeit im Eidotter-Eihautraum entsteht, kann die Flüssigkeit, das Wasser, nur durch die Poren der Eihaut in den Eidotter-Eihautraum eingedrungen sein. Ich glaube, der angestellte Versuch, der sehr oft wiederholt wurde, ist für die Richtigkeit dieses Befundes absolut beweisend.

\*) Vergleiche meine Mittheilung über das Indulin im Morphol. Jahrbuch Bd. III, Heft 4 p. 625 ff.



Dass beim reifen unbefruchteten Ei kein Wasser durch die Porenkanäle der Eihaut eindringt, erkläre ich mir dadurch, dass jene Poren mit dem dotterkörnchenfreien Protoplasma, welches wohl eine Strecke weit in dieselben eindringt, verklebt sind. Auf den Grund, warum gerade die Befruchtung, der Contact des Spermatozoon mit der Dotteroberfläche, die Oeffnung der Porenkanäle ermöglicht, komme ich weiter unten noch zu sprechen.

Betrachtet man an Eiern, deren Eihaut weit von dem Dotter abgehoben ist, die Oberfläche des letzteren mit starken Vergrößerungen, so bemerkt man, dass dieselbe theils mit kleinen Bläschen oder Tröpfchen hellen Protoplasmas bedeckt ist, theils, und dies ist wohl noch mehr die Regel, geradezu höckerig erscheint. Jene Tröpfchen, Bläschen oder Höcker sind die Reste der Fäden, die beim Auseinanderweichen von Eihaut und Eidotter sich zwischen beiden ausspannten. Das Ganze macht den Eindruck, als sei die gesammte Oberfläche des Dotters verdickt, jedenfalls sind die Begrenzungen nach dem Wasser im Eihaut-Eidotterraum sehr scharfe, was wohl auch aus den verschiedenen optischen Constanten des Protoplasmas und des Wassers hervorgeht. Es sind ja auch jene oben ausführlich beschriebene Fädenbildungen nur dadurch gut sichtbar, weil das Protoplasma ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen besitzt als das Wasser, und da beide sich nicht mischen, wird der Protoplasmafaden oder Strang scharf contourirt deutlich sichtbar.

Wenden wir uns wieder zur Betrachtung des Dottertropfens. Etwa  $\frac{1}{2}$  Minute, nachdem letzterer soweit hervorgetreten ist, dass man glaubt, er müsste sich bald von dem Dotter loslösen, fängt derselbe an, wieder in den Dotter, d. h. in die innere Mikropylengrube zurückzutreten. Meist erscheinen jetzt in seinem Inneren ein oder mehrere kleine Körnchen oder Bröckelchen; ich hielt diese Körner zuerst für Reste des Spermatozoon, etwa des Mittelstücks, bald überzeugte ich mich jedoch, dass dieselben weiter nichts als Dotterkörnchen waren, die in jenes sonst dotterkörnchenfreie Protoplasma eingedrungen waren. Je mehr solche Dotterkörnchen im Dottertropfen auftreten, um so schneller zieht derselbe sich in den Dotter zurück. Meist ist derselbe 5—6 Minuten nach Beginn der Befruchtung wieder völlig in den Dotter zurückgetreten (vergl. Fig. B15 — B18). Manchmal erfolgt das Zurückweichen des Dottertropfens auch ohne dass vorher in demselben Dotterkörnchen auftraten; in einem solchen Falle erfolgt jenes Zurückziehen des Tropfens meist sehr schnell, d. h. der ganze Dottertropfen ist nur etwa  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Minute sichtbar. Es kommen jedoch auch Fälle vor, wo der Dottertropfen 10—12 Minuten und noch länger sichtbar bleibt, dann erfolgt aber auch sein Zurückziehen sehr langsam. Die Ursachen der Unter-

schiede im zeitlichen Verlauf ein und desselben Vorganges liessen sich jedoch nicht feststellen. Mit dem Zurücktreten des Dottertropfens sehe ich den Befruchtungsvorgang als vollendet an. Die Gründe für diese Ansicht werde ich weiter unten ausführlich darlegen.

Erwähnen will ich hier noch, dass ich nie beobachten konnte, dass Theile des Dottertropfens sich ablösten, sondern stets zog sich der ganze Tropfen, wie er aus der inneren Mikropyle hervorgetreten war, auch wieder in den Dotter zurück.

Betrachten wir nun Schnitte durch Eier, welche in den verschiedenen Phasen des Befruchtungsvorganges gehärtet<sup>\*)</sup> worden sind. An solchen Schnittpräparaten bemerkt man, insbesondere wenn sie von Eiern stammen, die während der letzten Phasen des Befruchtungsvorganges gehärtet worden sind, dass die Eihaut sehr gefaltet ist, ein Ausdruck für ihre Ausdehnung durch die Wasseraufnahme. Durch die Härtingsflüssigkeit ist die Eihaut dann in jenen Zustand gebracht worden.

An einem Schnitt durch ein Ei, welches 10—12 Secunden nach Eintritt des Spermatozoon in die äussere Mikropyle gehärtet worden ist, der die Mikropylen und den Eikern getroffen hat, bemerkt man Folgendes: die Randschicht des dotterkörnchenfreien Protoplasmas ist an der Stelle zwischen den Mikropylen verdickt, die innere Mikropyle und der Spermagang ist deutlich zu sehen, dagegen sind die Contouren des Eikernes so verblasst, dass es schwer ist denselben deutlich zu sehen. Im Innern des Eikerns sind manchmal einzelne sich intensiv mit Carmin färbende Körnchen wahrzunehmen. Der Eikern selbst ist ungefärbt. Das dotterkörnchenfreie Protoplasma hat eine zarte rothe Carminfärbung angenommen, während der dotterkörnchenhaltige Theil des Dotters ungefärbt geblieben ist. Er besitzt jetzt eine gelbgrüne Farbe, die wohl auf die Einwirkung der Chromsäure auf die Dotterelemente zurückzuführen ist.

Schnitte durch Eier, die conservirt wurden in dem Moment, als das Leitband gerissen war, lassen, neben einer etwas gefalteten Eihaut, deutlich die innere Mikropyle erkennen, dagegen ist der Eikern so undeutlich geworden, dass derselbe nur wie ein zartes Wölkenchen im zart roth gefärbten dotterkörnchenfreien Protoplasma erscheint. Auf manchen Schnitten, die bei solchen Eiern den ganzen Spermagang gut getroffen hatten, schien es mir, als wenn im Spermagang noch neben dem Wölkenchen, welches dem Eikern entsprach, ein zweites mehr peripher gelegenes sichtbar sei (Fig. 8 *Spk*), welches dann dem Spermakern entsprochen hätte, allein sicher konnte ich dies nicht bestimmen, zumal

<sup>\*)</sup> Härtungsmethoden siehe oben.

in manchen Schnittserien nichts von einem zweiten Wölkchen zu entdecken war. Schnitte durch Eier, die gehärtet worden waren zur Zeit, als der Dottertropfen an der Dotteroberfläche erschien, zeigten den Eikern zum Theil noch in derselben Art und Weise wie im vorigen Stadium. An einigen Schnittserien solcher Eier liess sich sehr gut der durch die Härtingsflüssigkeit krümlig zusammengebackene Dottertropfen vor der innern Mikropyle erkennen. Auf andern Schnitten durch Eier dieses Stadiums liess sich dagegen schon eine schärfere Contourirung des Eikerns wahrnehmen, doch waren dies so vereinzelte Beobachtungen, dass darauf kein Werth zu legen ist.

Erwähnen will ich hier, dass, sowie der Eikern seine deutlichen Contouren verliert, die Dotterkörnchen sämmtlich eine Art regelmässige Anordnung erfahren, sie scheinen alle sich radienförmig um den verschwindenden Eikern anzuordnen. Man sieht wenigstens in der Umgebung des letztern deutlich den Anfang einer sogenannten »Sonnenbildung.«

Wichtig waren dann Schnitte durch Eier, die in dem Augenblick, als der Dottertropfen sich zurückzog, in die Härtingsflüssigkeit gebracht wurden. An Schnitten solcher Eier sah man jetzt einen deutlichen scharf contourirten Kern (Fig. 41).

Aus diesen Befunden geht hervor, dass mit Eintritt des Spermatozoon in das Ei der Kern desselben sich verändert, jedoch nicht zu Grunde geht. Er wird undeutlich. Nach Ablauf des Befruchtungsvorganges, d. h. nach der Zeit, die etwa der Spermatozoonkopf gebraucht hatte, um den Eikern zu erreichen, war an Stelle des zu einer zarten Wolke aufgelösten Eikerns ein neuer scharf contourirter Kern entstanden, und stehe ich nicht an, denselben mit dem Furchungskern HERTWIG's zu identificiren. Ungünstige Härtingsmethoden, oder auch weil mein Untersuchungsobject für die Beobachtungen dieser Vorgänge wenig geeignet war, machten es mir unmöglich, die Conjugation des Eikerns mit dem Spermatozoonkopf oder dem Spermakern zu beobachten. Alles lässt sich ja selten an einem Objecte erschöpfend auffinden! Gerade über den Conjugationsvorgang sind wir durch die schönen Untersuchungen HERTWIG's (l. c. N. 8 und N. 24) so genügend aufgeklärt, dass man jene bei niedern Thieren beobachteten Thatsachen unbedenklich für alle anderen Thiere adoptiren kann.

Was das Capitel der Härtingsmethoden betrifft, will ich noch erwähnen, dass es auch HERTWIG nicht gelang, am Froschei jene Veränderungen des Eikerns genau festzustellen, an durchsichtigen Eiern,



solchen von Würmern, Mollusken, Echinodermen oder Coelenteraten, war dies dagegen mit grösster Leichtigkeit möglich.

Erwähnen will ich noch, dass wenn man zu einem befruchteten Ei, welches gerade die Phase der »Leitbandbildung« erreicht hat, nach Entfernung des Wassers schnell  $\frac{3}{4}$ —1% Osmiumsäure zufügt, dieselbe dann nach 40—45 Secunden schnell wieder entfernt, das Ei in Wasser abwäscht und dann in dem Gemisch von Alkohol (2 Th.), Glycerin (1 Th.) und Wasser (2 Th.) aufbewahrt, es gelingt, das Leitband für einige Zeit zu fixiren. Auch das Stadium mit dem hervorgetretenen Dottertropfen lässt sich auf die nämliche Weise conserviren.

Wie schon mitgetheilt, kann man auf Schnitten durch Eier, die sofort nach Ablauf des Befruchtungsvorganges gehärtet worden sind, sehen, wie alle Dotterkörnchen sich concentrisch zu dem nun gebildeten Furchungskern gestellt haben. Diese concentrische Stellung der Dotterkörnchen lässt sich auch am frischen lebenden Ei beobachten. Man muss nur mit starken Vergrösserungen auf die Randschicht des Dotters einstellen, dann sieht man deutlich, wie central der früher erwähnten Zacken, Vorsprünge und Tropfen hellen Protoplasmas, die Dotterkörnchen sich in Reihen concentrisch gegen das Dotterinnere angeordnet haben.

Wenn der Dottertropfen sich wieder in das Innere des Dotters zurückgezogen hat, ist die Eihaut überall so weit vom Dotter entfernt, dass der Zwischenraum zwischen Eihaut und Dotter gleich ist dem gesammten Volum des letztern. Bald beginnt dann der Dotter Formveränderungen zu erleiden, er zeigt amoeboide Bewegungen, auf die ich weiter unten noch ausführlich zu sprechen komme. Die innere Mikropyle und die dieselbe umgebende gleichnamige Grube bleibt jedoch bis auf weiteres unverändert.

Ehe ich die Thatsachen, die sich bei Beobachtung des Befruchtungsvorganges ergeben haben, zusammenfasse, will ich noch die Veränderungen des reifen unbefruchteten Eies besprechen.

Wird ein dem Weibchen entnommenes reifes Ei in kaltes fliessendes Wasser von  $+8^{\circ}$  bis  $+10^{\circ}$  gebracht, so hält es sich in demselben, vorausgesetzt, dass das Wasser die gleiche Temperatur behält, bis zu 10 und 12 Stunden unverändert und ist es zu jener Zeit noch befruchtungsfähig. Nach der angegebenen Zeit (12 Stund.) gehen jedoch am Ei Veränderungen vor sich, die seine Entwicklungsfähigkeit sofort vernichten, Diese Veränderungen kann man auch auf kürzerem oder schnellerem Wege dadurch herbeiführen, dass man frische Eier insultirt, sie z. B. 5—10 Minuten mit einem Pinsel quetscht und hin und her rollt, oder was noch besser und sicherer wirkt, dass man solche Eier in Wasser

mit einer Temperatur von  $+16^{\circ}$  bis  $+30^{\circ}\text{C}$ . bringt. Eier, die in solchem wärmeren Wasser liegen, verlieren schon nach einer Stunde, oft in noch kürzerer Zeit ihre Befruchtungsfähigkeit. Die Veränderungen, die dabei eintreten, sind folgende: Hat man ein frisches Ei in ein kleines Gefäß mit Wasser von etwa  $+25^{\circ}\text{C}$ . gebracht, so bemerkt man, wie die Rindenschicht der Eihaut in kurzer Zeit stark aufquillt. (Eier, die bis zu 10 oder 11 Stunden in Wasser von  $+8^{\circ}$  bis  $+10^{\circ}$  lagen; zeigen das nämliche Aussehen.) Betrachtet man nun das erwähnte Ei ununterbrochen fast eine Stunde lang, so bemerkt man, wie die körnchenfreie Substanz, die als Rindenschicht des Dotters zwischen diesem und der Eihaut sich befindet, dicker zu werden scheint. Man kann ferner bemerken, wie an einer beliebigen Stelle, meist nicht in der Umgebung der Mikropylen die Eihaut sich um ein minimales von dem Dotter abhebt. Sobald dies an einer Stelle geschehen ist, geht dieser Vorgang an der gesamten Dotterperipherie vor sich, ohne dass es jedoch auch nur in einem einzigen Falle zur Bildung der oben geschilderten Protoplasmafäden kommt. Der ganze Trennungsvorgang der Eihaut vom Dotter geht äusserst langsam, aber an der gesamten Dotterperipherie gleichmässig vor sich. Nach und nach weicht die Eihaut immer mehr vom Dotter zurück, und etwa 10 Minuten nach der ersten Lösung der beiden sieht das ganze Ei so aus wie ein frisches Ei etwa 3—4 Minuten nach vorgenommener Befruchtung. Zu bemerken ist hier noch, dass die gesamte Dotteroberfläche glatt ist und überall von der dünnen dotterkörnchenfreien Protoplasmaschicht überzogen ist. An der innern Oberfläche der Eihaut sieht man nur in ganz seltenen Fällen ein paar helle Protoplasmatröpfchen, die beim Zurückweichen der Eihaut vom Dotter an ersterer hängen geblieben sind. Ein wesentlicher Unterschied in der Art der Trennung der Eihaut und des Dotters bei der Befruchtung und bei dem soeben geschilderten Vorgang liegt darin, dass sich bei ersterer die Eihaut zuerst nur in der Umgebung der Mikropyle, dann an der Mikropyle und zuletzt gewissermassen secundär an der übrigen Dotterperipherie löst, während bei der Veränderung des unbefruchteten Eies dieser Vorgang langsam, gleichmässig und völlig ausser Zusammenhang mit der Mikropyle verläuft. Ferner kommt es bei diesen Eiern nie zur Protoplasmafäden- und Leitbandbildung.

An solchen unbefruchteten Eiern, an welchen sich die Eihaut überall vom Dotter entfernt hat, kann man nun ganz ebenso gut wie am befruchteten Ei gleicher Form die innere Mikropylenöffnung sehr gut sehen. Das Bild ist ganz das gleiche. Auch jetzt erscheint, wie am befruchteten Ei, in der inneren Mikropylengrube der Dottertropfen, welcher in seinem Bau nicht im geringsten von dem Dottertropfen des

befruchteten Eies abweicht (Fig. C1). Die weiteren Veränderungen, denen der Dottertropfen jenes unbefruchteten Eies unterliegt, sind jedoch solche, die nicht im entferntesten mit den Veränderungen des Dottertropfens des befruchteten Eies sich vergleichen lassen. Es sind folgende: Der Dottertropfen zieht sich nicht zurück, sondern er wird mit allerlei krümeligen Massen, Dotterkörnchen gefüllt, wobei er noch an Grösse zunimmt. Bald erscheint er geradezu wolkig getrübt. Man bemerkt nun, wie der Dotter in der Umgebung der Mikropyle und bald auch auf der gesammten Peripherie bröckelig wird. Jetzt öffnet sich der Tropfen, einen Haufen krümelige Substanz in den Eihaut-Eidotterraum austreuend (Fig. C2), und damit leitet sich der völlige Zerfall des Eies, der nun nicht mehr lange auf sich warten lässt, ein.

Es war natürlich sehr wichtig, zu untersuchen, wie solche Eier in den verschiedenen Stadien sich gegen die Spermatozoen verhalten, d. h. ob sie noch befruchtungsfähig sind. Das Ergebniss der mit äusserster Sorgfalt an mehr als 50 Eiern angestellten Versuche war folgendes: Sowie die Eihaut sich an einer, wenn auch nur minimalen Stelle vom Dotter entfernt hat, ist das Ei nicht mehr befruchtungsfähig! Es gehen also mit der Lockerung des Zusammenhanges von Eihaut und Eidotter, die ja die oft erwähnte Rindenschicht körnchenfreien Protoplasmas in erster Linie betrifft, Veränderungen vor sich, die die Befruchtungsfähigkeit des Eies absolut vernichten.

Eier, die in kaltem Wasser (8—40°C.) bis zu 40 Stunden und länger aufbewahrt waren und die sich bei der Besichtigung als unverändert erwiesen, liessen sich stets mit günstigem Erfolg befruchten. Es ist mir geradezu nie misslungen, ein unverändertes reifes Ei zu befruchten. Die Zeit hat auf diese Eigenschaft wenig oder keinen Einfluss, denn war das vorliegende Ei verändert, so liess es sich, ob es nun  $\frac{1}{4}$  Stunde oder 40 Stunden aus der Leibeshöhle entfernt war, doch nicht mehr befruchten.

Ich muss hier noch eine Thatsache anführen, die mir für den Befruchtungsvorgang resp. für die Fortpflanzung unserer Petromyzonten in der Natur sehr wichtig erscheint. Es ergab sich nämlich die Beobachtung, dass je länger das Ei aus dem Thier entfernt war, vorausgesetzt dass es sich unverändert erhalten hatte, der Befruchtungsvorgang um so schneller ablief.

Bei Eiern, die 8—40 Stunden in kaltem (+8°) Wasser aufbewahrt worden waren, nahm die Zeit bis zum Auftreten des Dottertropfens nur 42—45 Secunden in Anspruch, und nach  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Minute war jener Tropfen schon wieder in das Eiinnere zurückgewandert.

Auch habe ich einigemal beobachtet, dass an ganz frischen reifen



Eiern die Befruchtung ein oder zweimal fehl schlug, dass die Spermatozoen an die äussere Mikropyle treten, aber doch keine Befruchtung erfolgt und erst beim 3ten oder 4ten Mal dieselbe gelingt. Bei Eiern die 6—8 Stunden oder länger in kaltem Wasser sich unverändert gehalten hatten, sah ich nie etwas derartiges, bei solchen Eiern gelang die Befruchtung stets schon das erste Mal. Für die Befruchtung in der Natur hat dies insofern Wichtigkeit, als Eier, die durch eine ungünstige Strömung beim Eierlegen nicht in den vom Männchen abgegebenen Spermastrahl kommen (letzteres hält sich bei jenem Act immer so auf, dass es auf die vom Weibchen fallen gelassenen Eier sofort einen Strahl Spermaflüssigkeit strömen lässt), und so unbefruchtet zu Boden fallen, nicht verloren gehen. Denn da sie, ich möchte sagen von Stunde zu Stunde befruchtungsfähiger werden, so genügt es, dass selbst ein nicht mehr sehr bewegungsfähiges Samenkörperchen, welches zufällig das Ei trifft, dies doch noch befruchten kann und so ein etwaiger Verlust an Eiern verhütet wird.

Fassen wir nun die Thatsachen, die sich bei der Beobachtung des Befruchtungsvorganges ergeben haben, sowie die Veränderungen, die das reife unbefruchtete Ei erlitt, zusammen und suchen wir für die gesammten so verschiedenartigen Vorgänge eine Erklärung zu finden.

Wir sahen, dass das Spermatozoon in die äussere Mikropyle des unveränderten reifen Eies eintritt, dieselbe durchwandert, die zwischen den beiden Mikropylen reichlicher angehäuften dotterkörnchenfreie Protoplasma-masse berührt und endlich in jenes Protoplasma eindringt. Mit dem Eintreten des Samenkörperchens in die erwähnte Protoplasma-schicht beginnt sofort lateral der Mikropyle die Eihaut sich vom Dotter abzuheben. Bald wird die gesammte, zwischen den Mikropylen befindliche körnchenfreie Protoplasmaschicht von dem durch die Poren der Eihaut eindringenden Wasser zu einem Strang, dem Leitband des Samens, zusammengedrückt, durch welchen der Spermakopf und vielleicht ein Theil des Mittelstückes in die innere Mikropyle und den Spermagang eintritt. Bald reisst das Leitband und bildet sein dem Dotter zugehöriges Ende sofort oder erst nachdem es sich für eine kurze Zeit in den Dotter zurückgezogen hat, den über die Dotterperipherie hervorragenden Dottertropfen. Derselbe wird nach kurzer Zeit, meist nachdem in seinem Innern Dotterkörnchen aufgetreten sind, in das Innere des Eies zurückgezogen, und damit ist der Befruchtungsvorgang abgelaufen. Die Rindenschicht des Dotters wird durch das die Poren der Eihaut durchdringende Wasser in feine Fäden ausgezogen; diese Fäden reissen endlich und bleiben die Reste derselben als kleine Tröpfchen hellen Protoplasmas an der Innenfläche

der Eihaut und an der jetzt eine zackige Oberfläche darbietenden Dotteroberfläche liegen. Sichtbar werden uns diese Protoplasmafäden dadurch, dass, wie schon oben erwähnt, das Protoplasma einen höhern Brechungs-exponenten hat als das Wasser. Während des Eintrittes des Spermatozoon in den Dotter verliert der Eikern seine scharfen Umrisse, um solche erst nach vollendeter Befruchtung wieder zu erlangen. Er ist dann als Furchungskern im Sinne HERRWIG's zu betrachten. -

Suchen wir nun diese ganzen Vorgänge zu erklären: Wir sahen das Spermatozoon in die äussere Mikropyle eintreten, durch die es sich wohl mit Hilfe seines kräftig undulirenden Schwanzes einen Weg zur Dotteroberfläche bohrt, und bald erscheint es auf der Oberfläche jener dotterkörnchenfreien Protoplasma-masse, die sich zwischen den Mikropylen vorfindet. Wir müssen nun annehmen, man sieht ja davon die Wirkung, dass der Spermakopf auf den gesammten Dotter einen Reiz ausübt, der sich durch eine geringe Contraction des Dotters äussert, und diese, wenn auch nur minimale Contraction hat die Loslösung der Eihaut vom Dotter zur Folge. Durch die Trennung der Eihaut vom Dotter werden die in ersterer befindlichen zahllosen Poren, die früher durch das Dotterprotoplasma verklebt waren, geöffnet und sofort strömt das Wasser von aussen in den sich bildenden Eidotter-Eihautraum. Die vielfach erwähnten Protoplasmafäden entstehen, wie oben schon erwähnt, dadurch, dass das körnchenfreie Dotterprotoplasma innig der Eihaut adhärirt, und jetzt mit der Entfernung der Eihaut vom Dotter in feine Fäden, oder wie zwischen den Mikropylen zu einem dicken Strang, dem Leitband des Samens, ausgezogen wird. Mit der weiteren Entfernung der Eihaut vom Dotter reissen endlich auch jene Fäden, deren Reste dann als kleine Tröpfchen an der Innenseite der Eihaut und der Dotteroberfläche zurückbleiben.

Was den Dottertropfen betrifft, so ist dieser nichts weiter als das centrale Ende des Leitbandes, bestehend aus körnchenfreiem Protoplasma, welches zwischen den Mikropylen vorhanden war und welches sich in den Spermagang selbst bis zum Eikern fortsetzt. War jene Protoplasmaansammlung am unbefruchteten Ei sehr reichlich zwischen den Mikropylen vorhanden, dann wurde das Leitband sehr breit und blieb nach seinem Reissen sein centrales Ende als Dottertropfen über die Dotteroberfläche hervorragend in loco liegen. War jene Protoplasma-masse spärlicher zwischen den Mikropylen angehäuft, so zog sich das centrale Ende des gerissenen Leitbandes erst in den Dotter, in die innere Mikropyle zurück, um aus derselben veranlasst durch einen zu jener Zeit im Innern des Dotters stattgefundenen Contractionsvorgang als Dottertropfen wieder hervorzutreten. Jener Vorgang im Innern

des Dotters ist die concentrische Anordnung der Dotterkörnchen gegen den Eikern. Mit jener concentrischen Stellung der Dotterelemente, die sofort nach geschehener Copulation eintritt, hängt sicher ein Contractionsvorgang im Dotter, ein Druck, der auf die Umgebung des Eikerns ausgeübt wird, zusammen. Durch jenen, wenn auch nur minimalen Druck, der auf das Dotterinnere ausgeübt wird, wird bewirkt, dass die leichtflüssige körnerlose Dotterprotoplasamasse, die sich im Spermagang befindet, sich einen Ausweg sucht und so als Dottertropfen in der innern Mikropylengrube erscheint. Eine Zeit nach der vollendeten Copulation lässt jene Contractionserscheinung des Dotters nach und nun wird der herausgetretene Protoplasmatropfen, der Dottertropfen, von dem jetzt gleichsam als Schwamm wirkenden körnerhaltigen Protoplasma wieder aufgesaugt. Der Spermagang bleibt jedoch, wie dies Schnitte durch Eier lehren, vorläufig noch mit körnchenfreiem Dotterprotoplasma gefüllt.

Die Veränderungen des unbefruchteten Eies sind auch leicht zu erklären: Durch das warme Wasser oder das lange Liegen in kaltem Wasser hat sich nach und nach die Eihaut mit Wasser imprägnirt und ist infolge davon stark aufgequollen. Endlich wird auch die innerste Schicht mit Wasser durchdrängt und nun dringt das aussen befindliche Wasser in den Eihaut-Eidotterraum, indem es die Eihaut vom Dotter abhebt. Vielleicht ist der Vorgang ein derartiger, dass die mit dotterkörnchenfreiem Protoplasma gefüllten oder verklebten Poren infolge der Aufquellung durch Wasser geöffnet werden, indem durch das Aufquellen der Eihaut jene innige Verbindung des Protoplasmas mit der Porenöffnung sich löst und nun einem Eintritt des Wassers von aussen kein Widerstand mehr entgegensteht. Dass solche Eier, an denen diese Veränderungen sich zeigen, nicht mehr befruchtungsfähig sind, erklärt sich dadurch, dass mit dem Abheben des dotterkörnchenfreien Protoplasmas von der Eihaut, also auch von der äussern Mikropyle, für das eindringende Spermatozoon kein directer Uebertritt von der innern Oeffnung der äusseren Mikropyle in den Dotter mehr möglich ist. In wie weit sich die Dotteroberfläche durch die Berührung mit Wasser verändert, ob sie etwa später für ein Spermatozoon undurchdringlich ist, konnte ich nicht entscheiden, denn nie sah ich an solchen veränderten Eiern, bei den vielfachen Versuchen sie noch zu befruchten, ein Spermatozoon im Eidotter-Eihautraum erscheinen.

Das Auftreten des Dottertropfens am nicht befruchteten, aber »veränderten« Ei hat auch nichts auffallendes, denn wie erwähnt, ist der Tropfen nichts weiter als ein Theil des Inhalts des Spermaganges, der durch einen, wenn auch minimalen Contractionsvorgang, wir können



ja auch annehmen, dass das Wasser als solches einen Reiz auf den Dotter ausübt, hervorgetrieben wird.

Da aber mit dem Eintritt des Wassers in den Eihaut-Eidotterraum des unbefruchteten Eies dessen Lebensfähigkeit aufhört, tritt der Dottertropfen nicht zurück, sondern bleibt über die Dotterperipherie hervorragend liegen. Indem jener Dottertropfen kurze Zeit nach seinem Erscheinen berstet, beginnt der Zerfall solcher Eier.

Gelang es mir auch nicht in allen Puncten die von mir gegebenen Deutungen des Befruchtungsvorganges zu beweisen, ich war ja theilweis bei der Deutung einzelner Vorgänge rein auf Vermuthungen angewiesen, so war es mir jedoch vergönnt, andererseits eine Reihe der wichtigsten Vorgänge, insbesondere den Eintritt des Spermatozoon ins Ei, auf das Klarste darzulegen. Man wird bei Erklärung der Vorgänge bei der Befruchtung wohl immer gezwungen sein, hypothetische Erklärungen zu geben, gewisse Momente, die eine Erscheinung veranlassen, werden uns als Ursache immer verborgen bleiben. So will ich beispielsweise nur erwähnen, dass wir an den Geschlechtsproducten nahverwandter Thiere, z. B. von Fischen, nicht die geringsten Differenzen in Form, Grösse, Structur etc. wahrnehmen können, und doch gelingt keine kreuzende Befruchtung. Es müssen da anatomische Verhältnisse vorhanden sein, die sich vorläufig, vielleicht auch für immer, unserer Kenntniss entziehen werden. Anders ist es mit gewissen Deutungen der Vorgänge bei der Befruchtung, z. B. mit der Deutung der Veränderungen, die der Contact des Spermatozoon mit der Dotteroberfläche zur Folge hat.

Hier sehen wir sofort den Effect jener Berührung, es ist eine geringe Contraction, eine amoeboide Bewegung des Dotters, er reagirt auf jenen Contact, welcher endlich die Loslösung der Eihaut vom Eidotter zur Folge hat. Diese Veränderungen treten alle nur ein, so lange das Spermatozoon die Dotteroberfläche berührt. Wir müssen also annehmen, dass dasselbe einen intensiven Reiz auf den lebensfähigen Dotter ausübt.

Versuchen wir nun die Ergebnisse dieses Abschnittes mit den Angaben der Autoren über den nämlichen Vorgang zu vergleichen. Ehe ich mich auf eine kurze Schilderung der Ansicht der Autoren einlasse, will ich nur bemerken, dass die älteren Forscher, deren Arbeiten in die fünfziger Jahre fallen, vorwiegend dem Spermatozoeneintritt in das Ei ihre Aufmerksamkeit zulenkten, während die jüngsten Arbeiter auf diesem Gebiet vorwiegend den Vorgängen bei dem Zusammentritt des Spermatozoon mit dem Eikern nachforschten.

Die Angaben AUG. MÜLLER's, denen sich, wie erwähnt, die meinigen

direct anschliessen, will ich am Schlusse dieses Abschnittes ausführlich besprechen.

Seit der so reichhaltigen Literatur, die durch die Arbeit **KEBER's**<sup>31)</sup> »über den Eintritt der Samenkörnchen in das Ei,« durch dessen Auffindung »der Mikropyle« entstand, war man bis in die neueste Zeit wenig weiter in der Erkenntniss jenes wichtigsten Actes der Befruchtung fortgeschritten.

Erst durch die neueren Arbeiten **AUERBACH's** (l. c. 45), **STRASSBURGER's**<sup>32)</sup>, **BÜTSCHLI's** (l. c. 29) und **O. HERTWIG's** (l. c. 24 etc.) wurden neue Thatsachen, neue Gesichtspunkte vorgebracht, die, wenn sie auch hauptsächlich nur die Veränderungen des Kernes unter dem Einfluss der Befruchtung betrafen, diese ganze Frage um ein entschiedenes Stück vorwärts brachten.

Vor der Entdeckung der (äussern) Mikropyle liess man die Spermatozoen einfach die Eihaut durchbohren und bis zur Oberfläche des Dotters vordringen. Doch sollten dann die Samenkörperchen sich auflösen und zu Grunde gehen. So fassten diesen Vorgang **BARRY**<sup>33)</sup> und **NELSON**<sup>34)</sup> auf. Durch die Entdeckung der Mikropyle veränderte sich die Sachlage bedeutend, indem man jetzt eine bestimmte Oeffnung kannte, durch die die Spermatozoen in das Ei eintreten konnten.

War es auch nicht immer möglich oder zulässig, die Befunde an Eiern mit Mikropylen auch auf solche, bei denen jene Oeffnung nicht constatirt worden war, auszudehnen, so war doch durch jene Entdeckung mehr Klarheit in den Verlauf des Befruchtungsvorganges gebracht worden. **KEBER's** Darstellungen, soweit sie den Befruchtungsvorgang betreffen, wurden bald zum grössten Theil als unrichtig befunden; allein die Mikropylen konnten andere Autoren doch constatiren, und bald sahen auch andere Forscher, wie **NEWPORT** (l. c. N. 4), **BISCHOFF**<sup>35)</sup> und **MEISSNER**<sup>36)</sup> den Eintritt der Spermatozoen in das Ei. Jedoch wurde

31) **KEBER**, De spermatozoorum introitus in ovula. Königsberg 1853 und **KEBER**, Mikroskopische Untersuchungen über die Porosität der Körpernebst einer Abhandlung über den Eintritt der Samenzellen in das Ei. Königsberg 1854.

32) **STRASSBURGER**. Ueber Zellbildung und Zelltheilung. Jena 1875.

33) **BARRY**, Philosophical transactions 1843.

34) **NELSON**, On the reproduction of *Ascaris mystax*. Proceedings of the royal-society. Vol. VI, p. 86. 1852.

35) **BISCHOFF**, Bestätigung des von Dr. **NEWPORT** bei den Batrachiern und von Dr. **BARRY** bei den Kaninchen beobachteten Eindringens der Spermatozoen ins Ei. Giessen 1854.

36) **MEISSNER**, Beobachtungen über den Eintritt der Samenelemente in den Dotter. Diese Zeitschrift. Bd. V. 1855.

auch durch diese Untersuchungen keine Aufklärung über das endliche Schicksal der Spermatozoen gewonnen.

Man liess die Spermatozoen in das Eiinnere eintreten sich dort auflösen, und sah dann in jener Verschmelzung der Spermatozoen mit dem Inhalt der Eier den Copulationsvorgang. Eine eingehende Berücksichtigung fand zu jener Zeit einzig und allein das Verhalten des Keimbläschens, und schieden sich damals die Forscher in zwei Parteien, von denen die eine der Ansicht war, dass infolge der Befruchtung der Kern des Eies verschwinde, er also sich vor der Furchung auflöse, und erst nach der Zweitheilung des Eies in den Theilstücken sich neu bilde, die andere nahm ein Fortbestehenbleiben des Eikerns (Keimbläschens), auch nach der Befruchtung an. Ich habe schon oben bei Besprechung der Literatur über die Reifung des Eies vieles hierher gehörige erwähnt, und will ich deshalb hier nur kurz nochmals die Hauptpunkte erwähnen, besonders insoweit sie zum Vergleich mit den Befunden bei *Petromyzon* wichtig sind. Die erstere Ansicht wurde, insbesondere von Botanikern, befürwortet und von REICHERT<sup>37)</sup> lebhaft verteidigt. Die Ansicht von der Fortexistenz des Keimbläschens wurde vor allen durch K. E. v. BAER (l. c. 23), JOH. MÜLLER (l. c. 47), LEYDIG (l. c. 48), GEGENBAUR (l. c. 19), HAECKEL<sup>38)</sup> und andern vertreten. In neuer Zeit hat insbesondere O. HERTWIG (l. c. N. 29) jene Vorgänge auf das Genaueste untersucht. Er fand eine wahre Conjugation des Spermakerns (so nennt er den eingedrungenen Theil des Spermatozoons) mit dem Eikern. Aus dieser Conjugation lässt er einen neuen Kern, den Furchungskern hervorgehen, und dieser theilt sich noch vor der Theilung des Dotters in zwei neue Kerne, die dann die beiden Kerne der ersten zwei Furchungskugeln bilden. Gleichzeitig oder sogar wenig vor ihm hatten schon andere Autoren, wie DERBÈS (l. c. 22), FOL (l. c. 20), FLEMMING<sup>39)</sup>, AUERBACH (l. c. 45), BÜTSCHLI<sup>40)</sup> und STRASSBURGER<sup>41)</sup> ähnliches beobachtet. Das wichtige Resultat aller dieser Arbeiten war: »dass es sicher nachgewiesen wurde, dass Theile des Spermatozoon in das Dotterinnere eintreten und sich dort mit dem inzwischen veränderten Eikern zum Furchungskern vereinigen«. In Bezug auf das Detail muss ich auf die citirten Arbeiten

37) REICHERT. Der Furchungsprocess und die sogenannte Neubildung einer Inhaltsportion. Archiv f. Anat. u. Phys. 1846.

38) HAECKEL. Zur Entwicklungsgeschichte der Siphonophoren. 1869.

39) FLEMMING. Archiv f. mikr. Anat. Bd. X.

40) BÜTSCHLI. Nova Acta d. Ks. Leop. Car. Acad. Bd. XXXVI, N. 5. Ferner diese Zeitschrift. Bd. XXV.

41) STRASSBURGER, Ueber Zellbildung und Zelltheilung. Jena 1875.



von HERTWIG, AUERBACH, BÜTSCHLI etc. verweisen. Ich will hier noch eine wichtige Thatsache erwähnen: HERTWIG findet bei Echinodermen im befruchteten Ei nur einen einzigen Spermakern und schliesst daraus, wohl mit Recht, dass nur ein einziges Spermatozoon in das Eiinnere eintritt. Die Angabe über die zur Befruchtung nöthige Zahl der Spermatozoen sind zum Theil sehr widersprechende. So geben eine Anzahl ältere und neuere Forscher an, insbesondere thut dies E. VAN BENEDEN <sup>42)</sup> bei Mittheilung der Ergebnisse seiner Untersuchung des Befruchtungsvorganges am Kaninchen, dass stets eine grosse Anzahl von Spermatozoen im Eidotter-Eihautraum nach der Copulation zu finden sei. Eine Angabe, die HENSEN <sup>43)</sup> bestätigen konnte. Andere, wie HERTWIG, sprechen sich, wie erwähnt, nur für die Betheiligung eines einzigen Spermatozoen an dem Befruchtungsvorgange aus.

Ich habe noch die wichtigen Thatsachen, die AUG. MÜLLER (l. c.) bei der Beobachtung des Befruchtungsvorganges am Neunaugenei gefunden hat, mitzutheilen. Er beschreibt, dass das Ei, so wie es in Wasser, in welchem sich lebende Spermatozoen befinden, gebracht wird, sich bald abrundet, indem das Wasser zwischen die Eihaut (er nennt sie Dotterhaut) und den Dotter eindringt. Er konnte beobachten, dass an der Stelle der Eihaut, wo sich die »Flocke« befand, etwa eine Minute nach der Berührung von Ei und Sperma, ein Cylinder dotterkörnchenfreien Protoplasmas auftrete, der sich bis an den Dotter fortsetze. Jener Cylinder dehne sich dann immer mehr aus und endlich reisse derselbe, sein peripheres Ende bleibe als Tropfen an der Innenfläche der Eihaut, sein centrales Ende als Halbkugel über die Dotterperipherie hervorragend im Dotter liegen. Bis zu diesem Stadium verlaufen nach dem Autor 85 Secunden. MÜLLER konnte dann noch beobachten, dass jene halbkugelförmige dotterkörnchenfreie Protoplasmamasse sich im Laufe der nächsten 5 Minuten völlig in den Dotter zurückziehe. An jener Stelle, wo sich die ebenerwähnten Vorgänge abspielten, konnte er noch bis nach 4 Stunden eine kleine Lücke im Dotter erkennen. Der Autor beobachtete ferner, dass, wenn die Eier nicht mehr ganz frisch waren, jene ebenerwähnten Vorgänge ausbleiben, jedoch jene aus dotterkörnchenfreiem Protoplasma bestehende Halbkugel aus dem Dotter hervortrete; nach ihm gehen, und dies stimmt völlig mit meinen Beobachtungen

42) E. VAN BENEDEN, La maturation de l'oeuf, la fécondation, et les premières phases du développement embryonnaires des mammifères d'après des recherches faites chez lapin. Bulletin de l'academie royale belge T. XL, 2. série. N. 12.

43) HENSEN, Beobachtungen über die Befruchtung und Entwicklung des Kaninchens und Meerschweinchens. Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte.

überein, solche Eier, ohne sich weiter zu entwickeln, sehr bald gänzlich zu Grunde.

MÜLLER fasst dann auf pag. 444 seine Ansicht über jene Vorgänge folgendermassen zusammen: »Das Urbläschen verliert seine eigene Wandung kurz vor der Befruchtungszeit, und seine Masse, welche frei von Dotterkörnchen ist, liegt wie früher unter der kahlen Fläche des Deckels. Der Cylinder und die kuglige Masse, mit welcher er zusammenhängt, sind die Substanz des Urbläschens, welche, von ihrer umhüllenden Membran befreit, durch die Oeffnung des Deckels in den durchsichtigen Raum, der sich im Eie wohl unter Mitwirkung einer lebendigen Contraction plötzlich bildet, hineintreten, und hier eine Flüssigkeit aufnehmen, welche von den Zoospermien hereindringt. Die Oeffnung des Deckels bleibt noch mehrere Stunden sichtbar und verräth den Sitz des Urkerns, des zukünftigen Stammvaters der zahllosen Mitglieder des neu zu bildenden Zellenstaates.« MÜLLER führt dann ähnliche Angaben, die QUATREFAGES<sup>44)</sup> bei der Beschreibung der Beobachtung der Entwicklung von *Hermella alveolata* gemacht hat, an.

Vergleichen wir nun diese Angaben mit den Resultaten der Untersuchung des Befruchtungsvorganges bei *Petromyzon Planeri*.

Mit grösserer Genauigkeit, als die meisten der neueren Forscher es bei ihren betreffenden Objecten beobachten konnten, gelang es, bei *Petromyzon* den Eintritt eines einzigen Spermatozoon in den Eihaut-Eidotterraum und in den Eidotter selbst zu verfolgen. Dagegen konnte die Verschmelzung des eingedrungenen Theiles des Spermatozoon, seines Kopfes, mit dem Eikern in Folge der Undurchsichtigkeit des Dotters nicht beobachtet werden, denn selbst Schnitte durch gehärtete Eier dieses Stadiums gaben keine ganz klaren Bilder. Der letztere Punkt, die Conjugation des Eikerns mit dem Spermakern, ist durch die Arbeiten AUERBACH's, BÜTSCHLI's, HERTWIG's und anderer so genügend sicher gestellt worden, dass kein Zweifel bestehen kann, dass jene Verschmelzung eines männlichen und eines weiblichen Kernantheiles, wie sie bei wirbellosen Thieren zu beobachten ist, auch für alle Wirbelthiere gilt.

Was speciell die Angaben MÜLLER's betrifft, so konnte ich dieselben zum grössten Theil bestätigen. Es ist ihm allerdings die Existenz der äussern wie der innern Mikropyle entgangen, wenigstens hat er sie als solche nicht erkannt, dagegen hat er einen der wichtigsten Vorgänge

44) QUATREFAGES, Mem. sur l'embryologie des Annelides. Annal. des sciences natur. 1848, T. X, p. 476.

bei jenem Act, die Bildung des Samen-Leitbandes schon beobachtet, wenn er auch demselben nicht diese Bedeutung zulegte. Auch die Entstehung des Rand- und des Dottertropfens ist ihm nicht entgangen, nur hat er, wie erwähnt, allen diesen Vorgängen, da ihm nur unvollständige Beobachtungen vorlagen, falsche Deutungen gegeben, die zum grössten Theil mit darauf beruhen, dass er den Eintritt des Spermatozoon in das Eiinnere nicht sah und so alle Vorgänge nur auf einen Contact zwischen Sperma und der Eihaut (Flocke), oder auf einen Flüssigkeitsaustausch bezog.

Zum Schlusse will ich die Ergebnisse der Untersuchung des Befruchtungsvorganges am *Petromyzonei* nochmals kurz zusammenfassen, um so ein gedrängtes Bild dieses complicirten Vorgangs zu geben. »Ein Spermatozoon tritt durch die äussere Mikropyle in den Raum zwischen Eihaut und Eidotter. Die Berührung des letztern durch das Spermatozoon löst einen Reiz aus, welcher eine geringe Contraction des gesammten Dotters zur Folge hat; diese äussert sich dadurch, dass eine Lösung der körnchenfreien Schicht des Dotters von der Eihaut in die Umgebung der Mikropylen eintritt. Diese partielle Trennung der Eihaut vom Eidotter ermöglicht jetzt, indem die früher mit Protoplasma verklebten Poren der Eihaut geöffnet werden, das Einströmen von Wasser in den sich bildenden Eihaut-Eidotterraum. Hierdurch wird die sich durch Wasseraufnahme ausdehnende Eihaut weit vom Dotter abgehoben. Durch das eindringende Wasser wird jene körnchenfreie Randzone des Dotters, indem Theile derselben noch eine Zeit lang der Eihaut fest adhäriren, in feine Fäden, oder wie an der Stelle zwischen den Mikropylen, wo jene Protoplasmanasse mächtiger angeordnet war, zu einem Strang, dem Leitband des Spermatozoon ausgezogen. Durch jenes Leitband dringt nun der Kopf des Spermatozoon in die innere Mikropyle, in den Spermagang, und gelangt so zum Eikern. Mit der weiteren Entfernung der Eihaut vom Eidotter reisst jener Strang körnchenfreien Protoplasmas, und bleibt sein peripheres Ende als grosser Randtropfen an der Eihaut, sein centrales als Dottertropfen vor der innern Mikropyle liegen. In den meisten Fällen zieht sich das centrale Ende für kurze Zeit in den Dotter zurück, um dann infolge eines Contractionsvorganges im Innern des Eies, der mit der »Sonnenstellung« der Dotterkörnchen zusammenhängt, nochmals hervorzutreten. Sowie durch die Conjugation des Eikerns mit dem Spermakern (Kopf) der Furchungskern sich gebildet hat, lässt jene Contraction im Dotter nach und der Dottertropfen zieht sich ganz in den Eidotter in den Spermagang zurück. Sowie dies geschehen ist, ist der Befruchtungsvorgang beendet; es wird derselbe durch anatomische Verhältnisse des Eies sehr unterstützt, indem die-



selben den wirksamen Theil des Spermatozoon ermöglichen, auf dem kürzesten, leichtesten Wege zum Eikern zu gelangen.«

Ich will hier noch eine Beobachtung mittheilen, die ich am befruchteten Petromyzonei gemacht habe, deren Deutung jedoch mir vorläufig nicht möglich ist.

Etwa eine Stunde nach vorgenommener Befruchtung ist die innere Mikropylengrube wohl am tiefsten, die Mikropyle selbst ist als ein scharf umrandetes Loch (Fig. 12) in der Mitte der erwähnten Grube deutlich zu erkennen. Stellt man nun ein Ei so, dass die innere Mikropyle gerade im Centrum des Gesichtsfeldes des Mikroskopes (auffallendes Licht) genau nach oben gerichtet ist, und beobachtet man dasselbe während der nächsten 7—8 Stunden fortdauernd, so bemerkt man Folgendes: Etwa 3 Stunden nach der Befruchtung scheint es, als ob die Mikropülenöffnung kleiner geworden sei, doch ist diese Differenz nur sehr schwer wahrzunehmen. Nach einer weiteren Stunde (4.) bemerkt man, dass die früher runde Oeffnung in eine ovale übergegangen ist (Fig. 13). Man kann nun sehen, wie successive die Mikropülenöffnung sich von den Seiten her verengt, dagegen sich in die Länge auszieht, also spaltförmig wird. Etwa 5 Stunden nach der Befruchtung hat sie bei fast minimaler Breite die mehr wie 4—5fache Länge des Durchmessers der ehemaligen runden Oeffnung erreicht (Fig. 14). Beobachtet man das Ei weiter, so sieht man, wie die Mikropyle sich immer mehr in die Länge auszieht. Etwa 7—8 Stunden nach dem Beginn der Befruchtung ist die spaltförmig gewordene Mikropülenöffnung nicht mehr als die erste Anlage der Furche des sich theilenden Eies zu verkennen (Fig. 15). In sehr kaltem Wasser verläuft dieser Vorgang etwas langsamer, wie ja bekanntlich auf den zeitlichen Verlauf der Entwicklung eines Eies die Temperatur des umgebenden Mediums einen grossen Einfluss hat. Durch Aufstellen des Mikroskops in die Sonne kann man jenen Vorgang zeitlich noch beträchtlich verkürzen. Die erwähnten Zeitangaben beziehen sich auf eine Zimmertemperatur von 15°C. Die Theilung des Eies schreitet nach Anlage der ersten Spalte schnell weit fort, so dass in der Regel 10—11 Stunden nach dem Beginn des Befruchtungsvorganges die Zweitheilung\*) vollendet ist (Fig. 16). Ob auch die erste Querfurche den Ort, wo früher die innere Mikropülenöffnung war, durchschneidet, war nicht möglich zu entscheiden, da sich

\*) Vergl. meinen Aufsatz »Zur Entwicklung des Medullarrohres und der Chorda dorsalis der Teleostier und der Petromyzonten«. Morphol. Jahrbuch Bd. III, p. 246.

nach erfolgter Zweitheilung des Eies jener Ort nicht mehr bestimmen lässt, zumal der Dotter mit und nach erfolgter Zweitheilung meist sehr lebhaften Contractionen und Formveränderungen unterliegt.

Aus diesem Befund geht hervor, dass zwischen der innern Mikropylenöffnung und der ersten Furchenanlage des sich theilenden Eies ein inniger Zusammenhang besteht; worin diese Beziehungen bestehen, was für eine Bedeutung denselben zukommt, war mir unmöglich zu eruiren. Man könnte wohl sagen, dass, da der Furchungskern sich eher theilt als der Dotter, gewissermassen die Dottertheilung vom Furchungskern aus eingeleitet wird. Der Furchungskern liegt nun bekanntlich an dem centralen Ende des Spermaganges, und da letzterer eine Durchbrechung des Dotters, einen *locus minoris resistentiae* darstellt, so wäre anzunehmen, dass von jener Stelle aus leichter als von einer andern die Dottertheilung ihren Anfang nehmen kann. Jedenfalls ist es wichtig, constatirt zu haben, dass die Stelle, durch die der wirksame Theil des Spermatozoon in das Eiinnere tritt, in den engsten Beziehungen zur Furchenbildung steht.

Mir lag es hier nun daran, diese Thatsache im Anschluss an die Mittheilung der Ergebnisse der Beobachtung des Befruchtungsvorganges zu erwähnen, hoffend, dass sich vielleicht später dieser interessante Vorgang durch neue ausgedehntere Untersuchungen aufklären wird.

Freiburg i/Br. den 14. Juni 1877.

---

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel XXVII—XXIX.

(Sämmtliche Figuren sind, soweit es auf die Grössenverhältnisse ankam, mit der OBERHÄUSER'schen Camera gezeichnet worden. Die angegebene Vergrößerungszahl erlaubt also sofort ein Auffinden der wirklichen Grösse. Die gelbe Farbe in den Figuren bedeutet stets den dotterkörnchenhaltigen Theil des Dotters. Sämmtliche Figuren, wenn nichts weiter erwähnt wird, betreffen die Eier etc. von *Petromyzon Planeri*.)

Fig. 1. Unbefruchtetes Ei von oben gesehen. *am* = äussere Mikropyle. *Eh* = Eihaut. Vergr. = 42.

Fig. 2. Unbefruchtetes Ei von oben, die Gegend der Mikropyle. *Df* = dotterkörnchenfreie Randzone des Dotters. *Ehz* = Rauigkeiten der äussern Oberfläche der Eihaut. Bezeichn. wie in Fig. 1. Vergr. = 200.

Fig. 3. Ein Schnitt durch ein unbefruchtetes Ei, der die Mikropylen und den Eikern getroffen hat. *im* = innere Mikropyle und Spermagang. *Ek* = Eikern, sonstige Bezeichnung wie in Fig. 1 und 2. Vergr. = 42.

Fig. 4. Derselbe Schnitt, der in Fig. 3 abgebildet wird, in der Gegend der Mikropyle. Bezeichnung wie in Fig. 1—3. Vergr. 200.

Fig. 5. Ein befruchtetes Ei, 15 Secunden nach dem Eintritt des Spermatozoon in die äussere Mikropyle. Ansicht von oben. Bezeichnung wie in Fig. 1—3. *Lb* = Leitband des Spermatozoonkopfes. Vergr. = 42.

Fig. 6. Dasselbe Ei wie in Fig. 5. Nur 7 Secunden später beobachtet. Bezeichnung wie in Fig. 1—5. Ansicht von oben. Vergr. = 42.

Fig. 7 — Fig. 9 betreffen combinirte Bilder. Die Verhältnisse des Dotters sind nach Schnitten durch Eier der entsprechenden Stadien gezeichnet worden, während die Verhältnisse der Eihaut, des Leitbandes und der Protoplasmafäden nach der Beobachtung des Befruchtungsvorganges am lebenden Ei gezeichnet wurden.

Fig. 7. Ein Ei 20 Secunden nach dem Eintritt des Spermatozoon in die äussere Mikropyle. Bezeichnung wie in Fig. 1—6. *Sp* = Spermatozoonkopf. Vergrößerung = 200.

Fig. 8. Ein Ei 26 Secunden nach Eintritt des Spermatozoon in die äussere Mikropyle. Bezeichnung wie in Fig. 1—7. *Spk* = Spermakern (?). Vergr. = 200.

Fig. 9. Ein Ei 1 Minute 28 Secunden nach dem Beginn der Befruchtung. Bezeichnung wie in Fig. 1—8. *Dt* = Dottertropfen. *Rt* = Randtropfen. Vergr. = 200.

Fig. 10. Dasselbe Ei, welches in den Figuren 5 u. 6 abgebildet wurde, 2 Minuten nach Eintritt des Spermatozoon in die äussere Mikropyle. Bezeichnung wie in Fig. 1—9. Vergr. = 42.

Fig. 11. Schnitt durch ein Ei, welches 1 1/2 Minute nach Eintritt des Spermatozoon in die äussere Mikropyle gehärtet worden war. Bezeichnung wie in Fig. 1—9. *Fk* = Furchungskern. Vergr. = 42.

Fig. 12. Ein Ei 3/4 Stunde nach dem Beginn des Befruchtungsvorganges. Ansicht der innern Mikropyle von oben. Bezeichnung wie in Fig. 1—9. Vergr. = 42.

Fig. 13. Dasselbe Ei, welches als Fig. 12 abgebildet ist, 4 Stunden 20 Min.



nach dem Beginn der Befruchtung. Bezeichnung und Vergr. wie in Fig. 42. Die innere Mikropyleneöffnung ist oval.

Fig. 44. Dasselbe Ei wie in Fig. 42 u. 43, 5 Stunden 45 Min. nach dem Beginn der Befruchtung. Bezeichnung und Vergr. wie in Fig. 42 etc. Die innere Mikropyle zieht sich zu einem engen Spalte aus.

Fig. 45. Dasselbe Ei wie in Fig. 42—44, 6 Stunden 45 Min. nach erfolgter Befruchtung. Bezeichnung und Vergr. wie in Fig. 42. Anlage der ersten Furche des sich theilenden Eies, entstanden aus der spaltförmig gewordenen Mikropyle.

Fig. 46. Dasselbe Ei wie in Fig. 42—45, 40 Stunden 35 Min. nach erfolgter Befruchtung. Bezeichnung und Vergr. wie in Fig. 42. Die Zweitheilung des Dotters ist fast vollendet.

Fig. 47. Schnitt durch den Eierstock eines 163 Millimeter langen Exemplars von *Ammocoetes*. Gefangen im Juni. *Bg* = Bindegewebsfasern und Zellen zwischen den Eiern. *Eh* = Eihaut. *Do* = Dotter. *Kbl* = Keimbläschen. Vergr. = 42.

Fig. 48. Schnitt durch den Eierstock eines 174 Millimeter langen Exemplars von *Ammocoetes* (Beginn des Umwandlungsstadiums; es war an diesem Exemplar der Beginn der Bildung des Saugapparates zu erkennen). Gefangen im Anfang September. Bezeichnung wie in Fig. 47. Vergr. = 42.

Fig. 49. Schnitt durch den Eierstock von *Petromyzon Planeri*. Das Thier war 163 Millimeter lang und war  $4\frac{1}{2}$  Monat vor der Laichzeit getödtet worden. Bezeichnung und Vergrößerung wie in Fig. 47 und 48. *Ek* = Eikern. *Eim* = Erste Anlage der innern Mikropyle und des Spermaganges. *PE* = Epithel gegen die Bauchhöhle.

Fig. 20. Spermatozoen von *Petromyzon* in Osmiumsäuredampf gehärtet und sofort gezeichnet. *Ko* = Kopf, *Mi* = Mittelstück, *Schz* = Schwanz des Spermatozoon. Vergr. 800.

---

Fig. A1 bis A14 stellt den Befruchtungsvorgang eines Eies von *Petromyzon Pl.* dar, an welchem die dotterkörnchenfreie Protoplasmaschicht zwischen den Mikropylen mässig stark entwickelt war.

Fig. B9 bis B18 stellt den Befruchtungsvorgang am *Petromyzonei* dar bis zum Verschwinden des Dottertropfens. An diesem Ei war die dotterkörnchenfreie Protoplasmasubstanz zwischen den Mikropylen sehr reichlich entwickelt, so dass der Rest des Leitbandes sich nicht wie in Fig. A10—A12 in den Dotter zurückzog.

Fig. C1 u. 2 stellen die Vorgänge am unbefruchteten Ei dar, die nach dem Heraustreten des Dottertropfens den Zerfall des Eies einleiten.

---

Sämmtliche Figuren A, B u. C sind die getreuen Copien von Skizzenreihen, die während der Beobachtung des Befruchtungsvorganges gemacht worden sind.

### Nachträgliche Bemerkungen hierzu.

Geraume Zeit nach dem Abschlusse dieses Aufsatzes gelangten theils durch den Autor selbst, theils durch einen befreundeten Gelehrten einige Schriften Fol's<sup>1, 2, 3, 4)</sup> in meine Hände. Da diese Schriften zum grössten Theil dasselbe Thema betreffen, welches im vorliegenden Aufsatz behandelt wurde, dabei Thatsachen erwähnt werden, die nicht nur nicht den von mir mitgetheilten widersprechen, sondern denen sich meine Beobachtungen direct anschliessen, so will ich hier kurz die Hauptresultate der Fol'schen Untersuchungen mittheilen.

Alles was in den kurzen Mittheilungen No. 4—3 enthalten ist, ist in der Abhandlung No. 4 bedeutend erweitert, bereichert durch neue Beobachtungen und unterstützt durch eine grosse Anzahl von Holzschnitten wiedergegeben, so dass ich mich in meinem Referat nur auf die letztangeführte Abhandlung (No. 4) beziehen kann.

Fol hat seine schönen Untersuchungen vorwiegend an Seestern-eiern (*Asteracanthion glacialis*) angestellt. Nachdem der Autor zuerst beschrieben hat, dass das reife Eierstocksei ein grosses Keimbläschen

1) H. Fol, Sur les phénomènes intimes de la fécondation. Compt. rend. 5 Febr. 1877.

2) Sur le premier développement d'une Étoile de mer. Compt. rend. 19 Febr. 1877.

3) Sur quelques fécondations anormales chez l'Étoile de mer. Compt.-rend. 2 Avril 1877.

4) Sur le Commencement de L'Hénogenie\*) chez divers animaux. Archives des sciences physiques et naturelles (Bibliothèque universelle et revue suisse). Avril 1877. Genève.

\*) Die Gründe, die den Autor bewegen, den Namen »Hénogenie« einzuführen, giebt er in einer kurzen Anmerkung auf pg. 1 an, und lasse ich diese Anmerkung hier wörtlich folgen: »HAECKEL a créé récemment deux nouveaux termes pour désigner le développement individuel et le développement historique ou paléontologique d'un être; il les nomme Ontogénie et Phylogénie. D'accepte son idée ainsi que le second de ces mots nouveaux. Quant au premier, je ne puis l'adopter car sa signification étymologique est en opposition avec le sens qui lui prête son inventeur. Onto-génie veut dire la formation de l'être en tant qu'être abstrait, »Das werden des seins«. Pour désigner de développement individuel, il est indispensable de remplacer le mot grec »οντος« qui signifie l'être abstrait par le mot »ενος« qui désigne un être individuel, un individu. Les mots d'Ontogénie et d'Ontogénèse devront donc faire place aux termes plus rationnels d'Hénogénèse et d'Hénogénie.« — Ich gebe nun zu, dass Fol sachlich ganz recht hat, allein es ist doch sehr fraglich, ob es zweckmässig ist, für den jetzt allgemein acceptirten Namen »Ontogenie« einen vielleicht etwas richtiger gebildeten einzuführen!

besitze, erwähnt er, dass mit dem letzteren bald nachdem das Ei aus dem Eierstock entfernt worden ist, Veränderungen vor sich gehen; das Keimbläschen verschwindet und an seine Stelle treten zunächst zwei helle Flecken von unregelmässiger Gestalt und zuletzt ein Doppelstern (Amphiasier).

Einen solchen Doppelstern, der vor der Befruchtung auftritt, hat schon BÜTSCHLI (l. c.) von *Nephelis*, und FOL<sup>5)</sup> selbst von dem *Pteropodenei* beschrieben. Diesem ersten Doppelstern ertheilt FOL, im Gegensatz zu einem später erst nach der Befruchtung auftretenden Doppelstern, den Namen »Amphiasier de rebut«, weil aus ihm das Richtungskörperchen der Autoren, FOL's »sphérules de rebut«, hervorgehe. Der erwähnte Doppelstern, dem zwei kleine Fleckchen mit undeutlichen Contouren, die Reste des Keimbläschens, dicht anliegen, rückt nun immer mehr peripher.

Der Autor giebt an, dass er nicht nachweisen konnte, ob diese Reste des Keimbläschens in die Zusammensetzung des Doppelsternes eingingen, oder ob dies nicht der Fall ist. Er konnte also nicht entscheiden, ob ein directer Zusammenhang des Keimbläschens mit den Gebilden, die sich aus dem ersten Doppelstern entwickeln, bestehe.

FOL beschreibt nun sehr ausführlich, dass der Doppelstern sich verändert; zunächst verliert derselbe zum Theil seine Strahlen und zuletzt theilt er sich in zwei Hälften. Die am meisten peripher gelegene, jetzt über die Dotterperipherie hervorragende Hälfte verliert endlich ganz ihre Sternform und wird als das aus zwei Bläschen oder Tropfen bestehende Richtungskörperchen ausgestossen. Aus dem nicht ausgestossenen Theil des Doppelsternes bildet sich der Eikern (Pronucleus femelle: E. VAN BENEDEN), und dieser wandert wieder dem Eicentrum zu. Alle diese Veränderungen treten ein, ohne dass dem nur in Meerwasser aufbewahrten Ei etwas Sperma zugefügt worden wäre.

Am Schlusse des ersten Abschnittes genannter Abhandlung (l. c. No. 4, p. 18) erwähnt der Autor noch, dass jener eben beschriebene Umbildungsmodus, wenn auch mit gewissen Einschränkungen an den Eiern von Medusen, Ascidien etc. beobachtet werden konnte.

Ich habe noch die Angaben FOL's, über die Zusammensetzung der Eihaut bei *Asteracanthion* anzuführen. Er beschreibt eine mucöse Schicht, welche den eine eigentliche Membran entbehrenden Dotter umhüllt; an dieser mucösen Schicht hängen, wenn das Ei den Eierstock

5) H. FOL, Sur le développement des ptéropodes. Archiv de zoologie expér. et génér. (LACAZE-DUTHIER) T. IV, 1876.



verlässt, meist noch platte Zellen und Fasern des Ovarialstromas, die jedoch im Meerwasser schnell abgespült werden.

Ich wende mich nun zu der Beschreibung, die Fol von dem Befruchtungsvorgang am Seesterneie giebt. Sowie man in das Gefäss, worin sich die Eier, die die ebenbeschriebenen Veränderungen durchlaufen haben, befinden, einige Tropfen frischer Spermatozoen bringt, kommen die letzteren in grosser Menge an die mucöse Schicht, die den Dotter umgiebt, und suchen sie sich, unterstützt durch die kräftigen Bewegungen ihrer Schwänze, einen Weg durch dieselbe zu bahnen. Natürlich dringt bald eins dem anderen voraus. Sowie das am weitesten vorgedrungene Spermatozoon die halbe Dicke der mucösen Schicht passiert hat, sieht man, wie an der demselben zunächst gelegenen Stelle der Dotterperipherie, ein kleiner Hügel von heller hyaliner Substanz sich gebildet hat. Dieser flache Hügel geht bald in einen conischen über, der sich endlich in eine feine Spitze auszieht, und diese trifft mit jenem am weitesten in die mucöse Schicht eingedrungenen Spermatozoon zusammen. Das Samenkörperchen dringt jetzt in den feinen Conus hyaliner Dottersubstanz ein und gleitet in das Dotterinnere hinab. Der in eine feine Spitze ausgezogene, über die Dotterperipherie hervorragende Conus bleibt noch eine Zeit lang bestehen, allein nach einigen Minuten verschwindet er auch und dann sieht man nicht einmal mehr die Oeffnung, die sich für den Durchtritt des Spermatozoon in der Dotteroberfläche gebildet hatte.

Ich habe hier noch eine äusserst wichtige Thatsache, die Fol gefunden hat, nachzutragen. Wie erwähnt umgiebt den Dotter nur jene mucöse Schicht, eine Dotterhaut war am Seesterneie nicht aufzufinden. Fol beobachtete nun, dass sowie das Samenkörperchen den Dotter berührt (den Conus aus hyaliner Dottersubstanz), es an der gesamten Dotteroberfläche zu einer Hautbildung kommt. Dieser Vorgang geht sehr schnell vor sich, denn noch ehe das Spermatozoon in den Dotter eingetreten ist, sind an jener »neugebildeten Dotterhaut« schon zwei Contouren zu erkennen. Diese neugebildete Membran verhindert, dass weitere Samenkörperchen in das Ei eintreten.

Der Autor theilt ferner mit, dass der beste Moment zur Befruchtung der sei, wenn der Eikern neu gebildet ist. An Eiern von Thieren, die in der Gefangenschaft gelebt haben, oder solchen Eiern, bei denen die Umwandlung des Keimbläschens in den Eikern noch nicht vollendet war, kommt es nie zur Bildung der »Dottermembran«, und dadurch wird es ermöglicht, dass mehr wie ein Spermatozoon in den Dotter eindringt. Fol weist nun nach, dass wenn nur ein Spermatozoon in das Ei eingedrungen ist, das erstere als Spermakern sich mit dem Eikern

(HERTWIG) verbindet und die weitere Entwicklung des Eies eine normale ist. Sind aber mehr wie ein Spermatozoon in den Dotter eingetreten, dann finden sich in demselben mehrere Spermakerne (»Sonnene«), und die ganze Entwicklung des Eies wird eine anormale. Es entwickelt sich aus solchen Eiern eine Missbildung.

Den Thatsachen, die FOL bei Beobachtung des Befruchtungsvorganges von *Asteracanthion* gefunden hat, schliessen sich meine Beobachtungen, die den gleichen Vorgang am *Petromyzonei* betreffen, auf das beste an. Uns beiden war es möglich, zu constatiren, dass zu einer normalen Befruchtung nur ein einziges Spermatozoon nöthig ist, FOL fand sogar, dass wenn mehr als ein Spermatozoon in das Ei eindringt, die Entwicklung desselben stets eine anormale wird. Ich konnte nie beobachten, dass zwei Spermatozoen in ein *Petromyzonei* eintraten, sah aber auch nie eine anormale Entwicklung der Eier. Ich kann mir jedoch ganz gut denken, dass bei sehr weiter äusserer Mikropyle zwei Spermatozoen in das Leitband und dadurch in den Eidotter eintreten können. Ist dies der Fall, dann wird wohl mit dem Ei eine ähnliche anormale Entwicklung vor sich gehen, wie sie FOL von dem im gleichen Fall befindlichen *Seesternei* beschreibt.

Ferner konnten wir beide constatiren, dass noch ehe das Spermatozoon in den Dotter eingedrungen ist, bloß wenn es demselben sehr nahe gekommen ist, es auf den Dotter einen Reiz ausübt, auf welchen derselbe sofort reagirt. Beim *Seesternei* kommt es zur Bildung jenes conischen Hügels, der dem Spermatozoon entgegenkommt, beim *Petromyzonei* bildet sich das Leitband.

Was nun die äusserst interessante und wichtige Beobachtung FOL's über die Eihaut, die durch den Contact von Spermatozoon und Eidotter entsteht, betrifft, so ist es möglich, dass das höckerige Aussehen der Dotteroberfläche des *Petromyzoneies*, welches sofort nach Beginn der Befruchtung eintritt, das Resultat eines ähnlichen Vorganges ist, doch ist hier vor allen hervorzuheben, dass beim *Petromyzonei* mit dem Reißen des Leitbandes der directe Weg in das Dotterinnere für das Samenkörperchen abgeschnitten ist, nur wenn dies nicht der Fall wäre könnte eine Aenderung der Eidotteroberfläche von Wichtigkeit werden. Da mir es jedoch in den meisten Fällen nachzuweisen gelang, dass die äussere Mikropyle durch den Schwanz und ein Theil des Mittelstücks des Spermatozoon verstopft wurde, ferner da ich in veränderte Eier, bei denen der Zusammenhang von Eihaut und Dotter gelockert war, nie ein Samenkörperchen eindringen sehen konnte, so glaube ich kaum, dass es beim *Petromyzonei* zu einem ähnlichen Vorgang, wie bei dem *Seesternei*, zu einer Eidotterhautbildung kommt. Ich konnte

wenigstens weder am frischen, noch gehärteten Ei eine solche Membranbildung nachweisen. Zu erwähnen ist ja ausserdem, dass zwischen Eiern ohne feste Eihaut und solchen mit einer solchen und einer darin befindlichen Oeffnung, einer Mikropyle, ein Unterschied besteht.

Aus diesen Befunden ergibt sich, dass das *Petromyzonei* in seinen Mikropylen und dem Leithand, das Seesternei in der bei ihm nach der Befruchtung eintretenden Dotterhautbildung, Einrichtungen besitzen, die es ermöglichen, die Zahl der in den Dotter eintretenden Spermatozoen auf ein einziges zu beschränken.

Freiburg i/Br. den 13. August 1877.













